

A AÇÃO FIBROMATOSA COMPARADA DOS ORTO- E META-HORMÔNIOS ESTROGÊNICOS ¹

RAUL F. MELLO

Faculdade de Medicina, São Paulo

(Com 18 figuras no texto)

INTRODUÇÃO

As experiências de LACASSAGNE e de outros autores demonstraram que se pode induzir por meio de um tratamento prolongado de estrogênio não só uma proliferação atípica do epitélio glandular, mas também uma reação tumoral do tecido conjuntivo subcutâneo e linfático. Depois, NELSON (1937) também viu fibromas uterinos.

LIPSCHÜTZ & IGLESIAS (1938) demonstraram que se podiam induzir em cobaias castradas, por meio de um tratamento prolongado de benzoato de estradiol, não somente tumores uterinos, mas também múltiplos tumores abdominais extra-genitais de natureza conjuntiva. Essa tumorigênese podia ser avaliada sob o ponto de vista quantitativo.

Abriu-se dêsse modo, um novo campo experimental com novos e importantes problemas para serem investigados. Desde então, LIPSCHÜTZ e os seus colaboradores, IGLESIAS, KOREF, SZABÓ, VARGAS, BRUZZONE, ZAÑARTU, CARRASCO e muitos outros, fizeram investigações detalhadas dos problemas relacionados com a tumorigênese experimental provocada por estrogênios.

¹ Recebido para publicação a 13 de novembro de 1944.

Apresentado à Sociedade de Biologia de São Paulo em sessão de 9 de outubro de 1944.

Trabalho do Departamento de Medicina Experimental, Serviço Nacional de Saúde, Santiago, Chile.

Desejamos expressar o nosso sincero agradecimento e gratidão ao Prof. Dr. A. LIPSCHÜTZ por todas as sugestões que nos deu e por ter tornado possível a realização deste trabalho no Departamento de Medicina Experimental do qual é o diretor, em Santiago, Chile. Somos muito grato ao Dr. S. BRUZZONE pelo auxílio eficaz que nos prestou e também agradecemos a C. FRANKE a ajuda que nos deu.

O estradiol e uma parte da estrona foram fornecidos pelo Dr. Karl Miescher, da Ciba, Basileia (Suíça). O estriol, a equilenina, os isômeros alfa e beta da dihidroequilenina e uma parte da estrona se devem ao Dr. Oliver Kamm, Parke, Davis & Cia., Detroit, Michigan, E. U. da Norte América.

As pesquisas foram facilitadas pelo auxílio econômico proporcionado ao Prof. Dr. A. LIPSCHÜTZ pela "The Rockefeller Foundation" e pela "Jane Coffin Childs Memorial Fund for Medical Research".

Os resultados dessas pesquisas podem ser vistos em numerosas publicações do Departamento de Medicina Experimental que têm aparecido em anos sucessivos desde 1938 até hoje. Entre outros, THIBAUT (1941) fez um estudo comparado sobre a ação tumorigênica conjuntiva dos orto-, para- e meta-hormônios foliculares. Como sabemos, existem no ovário dois estrogênios, o estradiol e a estrona e na urina, encontra-se o estriol. Na urina da égua, acham-se a equilina, a equilenina, a hippulina e outros estrogênios. LIPSCHÜTZ (1936) procurou dar uma nova interpretação para indicar as relações fisiológicas entre os vários hormônios sexuais.

Quadro mostrando as relações fisiológicas dos hormônios sexuais, conforme o conceito de Lipschütz (1936)

	COMPLEXO OVÁRICO		COMPLEXO TESTICULAR
	FASE FOLICULAR	FASE LUTEINICA	
Pré-hormônio	—	—	—
Orto-hormônio	Estradiol	Progesterona	Testosterona
Para-hormônio	Estrona (?)	—	—
Meta-hormônio	Estriol	Pregnandiol	Androsterona
	Equilina		Dehidroandrosterona
	Equilenina		
	Hippulina		

Conforme êsse conceito haveriam pre-, orto-, para-, e meta-hormônios. Os pre-hormônios seriam as substâncias das quais se originariam os orto- e para-hormônios. O estradiol seria o orto-hormônio folicular e a estrona, cujo papel ainda não foi bem definido, seria um satélite do orto-hormônio, provavelmente, um para-hormônio. Os estrogênios encontrados de preferência na urina seriam meta-hormônios, produtos do metabolismo dos orto- e para-hormônios, encontrados de preferência, no ovário. Com a transformação de orto-hormônio em meta-hormônio, o organismo procuraria obter, segundo o conceito de LIPSCHÜTZ, uma substância menos tóxica e de eliminação mais fácil.

Dessa forma, tornou-se urgente um estudo comparado da ação tumorigênica conjuntiva que é a indicadora de uma ação tóxica dos estrogênios ováricos e urinários. THIBAUT (1941), como já aludimos atrás, fez um estudo quantitativo comparado da ação tumorigênica conjuntiva dos estrogênios ováricos, estradiol (orto-hormônio) e estrona (para-hormônio) e dos estrogênios urinários, estriol e equilenina (meta-hormônios).

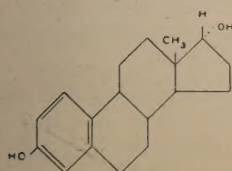
Os resultados das pesquisas de THIBAUT demonstraram que em quantidades comparativamente iguais, a ação tumorigênica dos estrogênios urinários era menor que a dos estrogênios ováricos. Assim, o estriol e a equilenina eram menos tumorigênicos que o estradiol e a estrona. O estriol e a equilenina mesmo em quantidade duas vezes maior que a de estrona eram menos tumorigênicos que aquela, sendo que a ação fibromatogênica da equilenina foi quase insignificante.

Dessas investigações resultou o problema, se não haveria uma relação entre a menor ação tumorigênica conjuntiva dos meta-hormônios e a sua atividade estrogênica. Haveria um paralelismo entre a ação tumorigênica conjuntiva e a atividade estrogênica? A diminuição ou o aumento da atividade estrogênica traria também, como consequência, uma diminuição ou um aumento da ação tumorigênica conjuntiva?

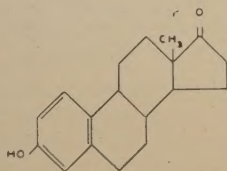
Para resolver tal problema, empreendemos experiências, empregando quantidades múltiplas de meta-hormônios, quando comparadas com as quantidades utilizadas de orto- e de para-hormônios. Dessa maneira, ficou consideravelmente elevada a concentração de meta-hormônios no organismo e assim tornou-se possível ver qual seria a repercussão sobre a ação tumorigênica conjuntiva do estrogênio e também, verificar a natureza de tal modificação.

Fizemos dessa forma, uma investigação comparada quantitativa da ação tumorigênica conjuntiva dos estrogênios ováricos, estradiol (orto-hormônio) e a estrona (para-hormônio) e dos estrogênios urinários (meta-hormônios), o estriol, a equilenina como também dos isômeros alfa e beta da dihidro-equilenina.

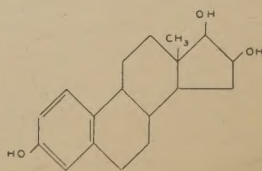
FÓRMULAS ESTRUTURAIS DOS ESTROGÊNIOS IMPLANTADOS. A ESTRUTURA DOS DOIS ISÔMEROS DA DIHIDROEQUILENINA ESTÁ DE ACORDO COM DOISY (1942)



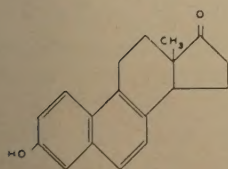
ALFA-ESTRADIOL



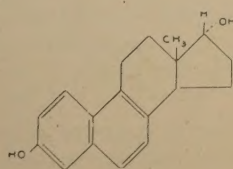
ESTRÔNA



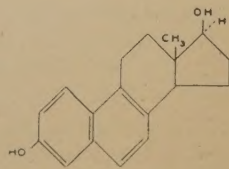
ESTRIOL



EQUILENINA



ALFA-DIHIDROEQUILENINA



BETA-DIHIDROEQUILENINA

MÉTODO EXPERIMENTAL

Material e Técnica — Empregamos em nosso trabalho, o método de implantação subcutânea de comprimidos de hormônio cristalizado introduzido por DEANESLY & PARKES (1938) e que LIPSCHÜTZ & VARGAS (1939) demonstraram que se prestava magnificamente para tumorigênese experimental.

Os comprimidos foram usados sob a forma de cilindros ou de tabletas inteiras ou de fragmentos destas, conforme o fim almejado. A absorção é proporcional à superfície e sendo então desejada uma maior absorção deve-se aumentar a superfície do comprimido buscando uma forma apropriada para o objetivo em questão.

Os cilindros foram confeccionados com hormônio cristalizado em um pequeno aparelho compressor, especialmente fabricado para o Departamento de Medicina Experimental, conforme o modelo descrito por HARTMAN (1940), MARK & BRISKIND (1940), porém com várias modificações apropriadas. THIBAUT (1941) dá uma descrição detalhada desse pequeno aparelho em seu trabalho.

As tabletas de hormônio cristalizado foram feitas em uma máquina compressora manual de um tipo comum para esse fim, em uso no Departamento.

O peso inicial médio dos comprimidos nos grupos com estrogênio ovárico foi de 3,3 a 3,4 mg. e nos grupos com estrogênio urinário foi de 24,2 até 38,9 mg., como pode ser visto no quadro n.º 1. Portanto, o peso inicial médio dos comprimidos de estrogênios urinários foi de 7 a 11 vezes maior que aquele dos comprimidos de estrogênios ováricos. Uma vez obtidos os comprimidos de hormônio cristalizado com a forma desejada, eram eles pesados em uma balança de precisão e depois, distribuídos em pequenos tubos, previamente marcados.

Em seguida, os tubos eram levados ao vácuo para desidratar os comprimidos, obtendo-se assim o peso seco de cada um deles. Os comprimidos permaneciam no vácuo durante 1 hora e depois eram, novamente, pesados e se acusassem qualquer variação de peso, eram novamente levados ao vácuo, repetindo-se a operação até que não houvesse mudança alguma entre duas pesagens consecutivas. Uma vez conseguido esse peso constante, os comprimidos eram guardados em dessecadores com cloreto de cálcio até o momento da implantação. Todas as manipulações foram feitas na temperatura ambiente.

Quando os animais foram autopsiados, os comprimidos eram recuperados, sendo limpos, com cuidado, de algum tecido conjuntivo aderente. Em seguida, eram eles submetidos ao mesmo processo de desidratação, já descrito atrás, até que fosse obtido um peso, sem variação alguma que era o peso final do comprimido. A diferença entre o peso inicial e o peso final do comprimido nos permitiu fazer os cálculos da absorção.

Despendemos em nossas experiências, um total de 101 cobaias fêmeas, previamente castradas com o fim de ser eliminado o ovário que desempenha um papel protetor anti-tumoral, como demonstraram as investigações de LIPSCHÜTZ e de seus colaboradores (1939, 1940).

O peso dos animais, na ocasião da castração variou de 150 até 570 g. O peso dos animais, no início das experiências oscilou entre 350 a 750 g. e o peso final foi de 380 até 670 g.

Quadro n.º 1

RESUMO GERAL

HORMÔNIOS IMPLANTADOS	NÚMERO DE ANIMAIS	DURAÇÃO DA EXPERIÊNCIA EM DIAS	COMPRIMIDOS				FREQÜÊNCIA DE TUMORES MAIORES QUE A NOTA TUMORAL N.º 1		ÚTERO			NOTA TUMORAL VOLUMÉTRICA MÉDIA					
			PÊSO		ABSORÇÃO TOTAL MÉDIA mg	Número de animais	Perce- ntagem %	METRORRAGIA		PÊSO UTERINO MÉDIO g							
			Inicial Médio mg	Final Médio mg					Número de animais		Perce- ntagem %						
<i>Estrogênicos ováricos:</i>																	
Alfa-estradiol.....	10	90	3,3	1,6	1,7		10	100	5	50	5,5	4,9	3,3				
Estrona (P. Davis & Co.).....	15	90	3,4	2,3	1,1		8	53	6	40	5,0	3,4	3,8				
Estrona (Ciba).....	12	90	3,3	2,2	1,1		9	75	2	16	7,1	2,8	7,0				
<i>Estrogênicos urinários:</i>																	
Estriol.....	15	90	24,2	14,2	10,0		14	93	3	20	5,5	4,3	8,9				
Equilenina.....	15	89	38,9	30,3	8,6		11	73	8	53	6,8	3,7	12,4				
Alfa-dihidroequilenina.....	12	90	31,5	21,5	10,0		11	91	6	50	7,5	4,8	7,8				
Beta-dihidroequilenina.....	12	90	33,7	21,5	12,2		4	33	1	8	5,9	1,7	1,4				

Todas as implantações foram feitas em animais sob anestesia e com todos os cuidados de assepsia. Os comprimidos eram introduzidos em baixo da pele através de um tunel de 4 a 5 cm. de comprimento que partia de uma incisão

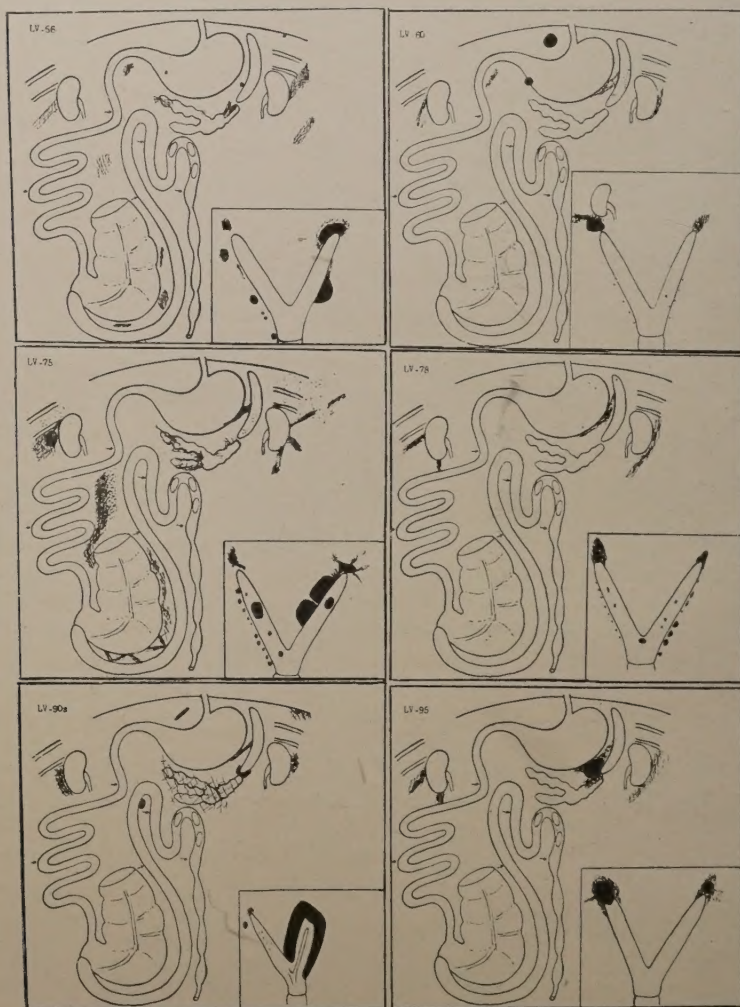


Fig. 1 — *Estrogênicos ováricos*. Diagramas de animais mostrando a tumorigênese no grupo de estrogênicos ováricos. Os tumores estão representados em negro, a fibrose está indicada em ralado e a "sementeira tumoral", em pontilhado. O LV-56 e o 60 pertencem ao grupo do alfa-estradiol. O LV-75 e o 78 são de um grupo de estrona (P.D.) e os animais 90a e 95 fazem parte de um outro grupo de estrona (Ciba) (Os valores de cada animal estão nos quadros do apêndice suplementar e os valores médios acham-se nos quadros do texto).

dorso-lateral de 0,5 cm., tomando-se como ponto de referência a última costela. No fundo desse túnel eram depositados, com uma pequena pinça, os comprimidos de hormônio cristalizado.

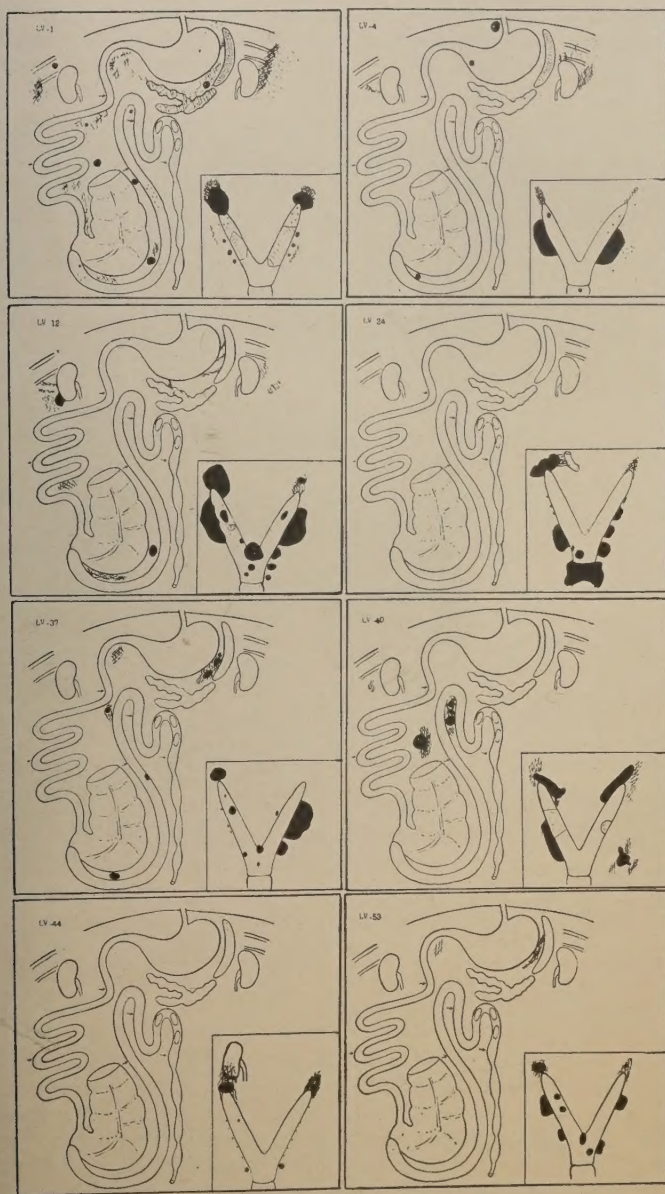


Fig. 2 — Estrogênicos urinários. Diagramas de animais indicando a tumorigênese no grupo de estrogênicos urinários. O LV-1 e o 4 representam o grupo do estriol. O LV-12 e o 24 pertencem ao grupo da equilenina. Os animais 37 e 40 são do grupo implantado com alfa-dihidro-equilenina e o 44 e o 53 representam o grupo da beta-dihidroequilenina (Ver também a legenda da fig. 1).

Uma vez os animais implantados eram eles controlados três vezes por semana, anotando-se, nos protocolos, os dados referentes ao estado da vulva (ulcerações), da vagina (metrorragias), à queda de pêlo, ao desenvolvimento da glândula mamária e também, qualquer outra indicação julgada útil para as experiências em curso.

A duração das experiências foi geralmente de 90 dias, no fim de cujo prazo todos os animais foram autopsiados. A glândula mamária, a vagina e o útero, foram fixados em Bouin e serão o objeto de estudo histológico que faremos em outra ocasião. Os pêsos dos úteros dos animais implantados eram anotados cuidadosamente assim como, também, os últimos dados observados, no protocolo.

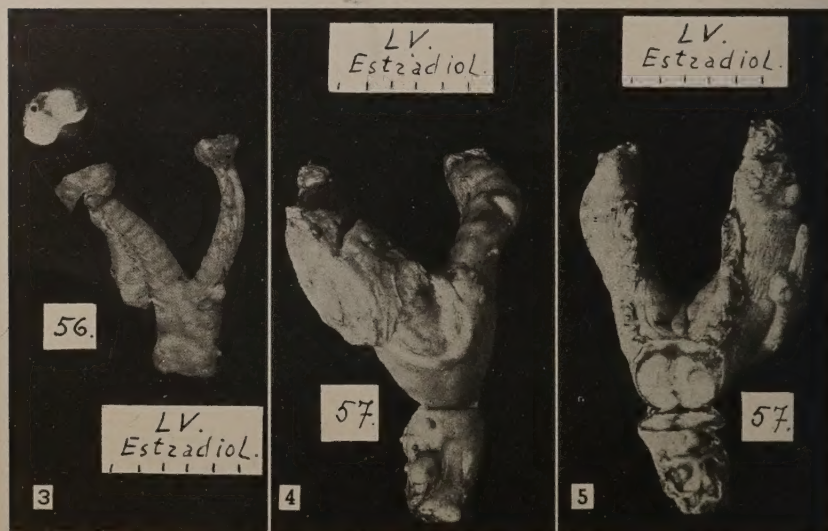
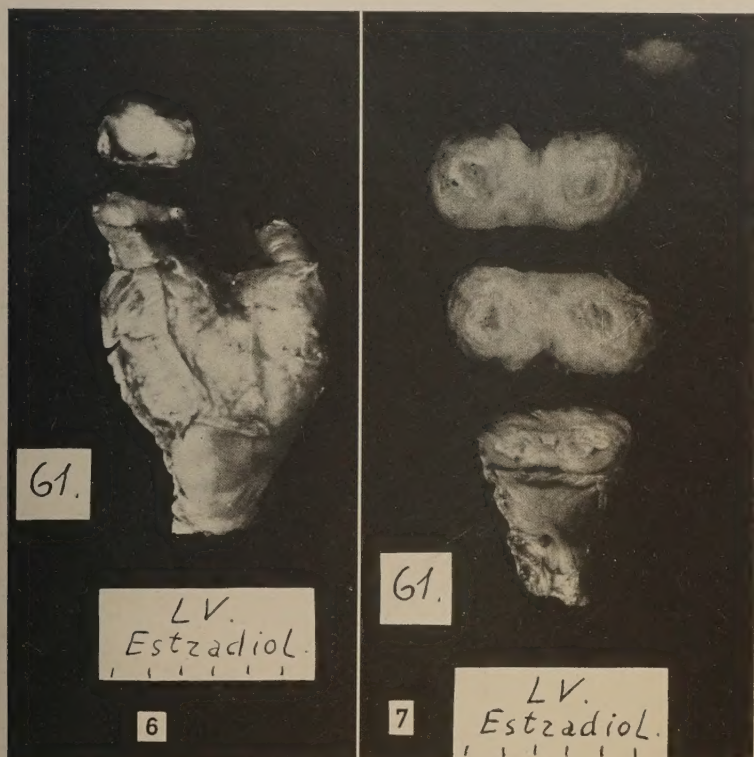


Fig. 3 — Útero do animal LV-56 cujo diagrama se acha na fig. 1, onde pode ser vista a localização dos tumores. Fibrose "apical" bilateral. Um grande tumor mesometral esquerdo. O tumor "apical" esquerdo foi cortado ao meio. Absorção diária de 16,6 microgramas de alfa-estradiol em 90 dias. N.T.T. 8,0 e a N.T.V.T. 9,4. Figs. 4 e 5 — Útero com tumores do animal LV-57. A fig. 4 mostra a face ventral e a fig. 5, a face dorsal. Tumores "apicais" e mesometrais. Presença de uma placa de peritonite necrótica purulenta no corno uterino esquerdo e de aderências no direito que ficou aderido ao colon ascendente e à parede abdominal. Absorção diária de 13,3 microgramas de alfa-estradiol em 90 dias. N.T.T. 8,5 e a N.T.V.T. 8,7. Na fig. 5 a base do útero foi cortada para ser vista a parte interna.

A avaliação da tumorigênese foi feita conforme o método usado por LIPSCHÜTZ e por seus colaboradores, neste Departamento (1939), que é um sistema de notas tumorais. Além desse método, introduzimos um outro sistema sugerido pelo Prof. LIPSCHÜTZ, avaliando-se a tumorigênese pelo volume dos tumores induzidos, sendo assim uma nota volumétrica e procedendo-se pela forma que descreveremos adiante. Cada tumor era medido cuidadosamente em três diâmetros para simplificar e o volume respectivo era calculado pela multiplicação dos três diâmetros obtidos. A soma dos números que indicavam os "volumes" dos tumores provocados pelo estrogênio no animal, dava o "valor volumétrico" ainda que relativo da tumorigênese nesse animal, sendo a sua "nota

volumétrica tumoral". Como os números obtidos fossem muito grandes, eram simplificados, fazendo-se a sua divisão por 100, conseguindo-se dêsse modo números menores, mas também significativos.



Figs. 6 e 7 — Útero com tumores do LV-61 que na fig. 7 é visto em corte. Neste animal, houve uma peritonite com intensa fibrose, ficando o útero aderido ao caecum e ao colon. Absorção diária de 23.3 microgramas de alfa-estradiol durante 90 dias. N.T.T. 4.5 e a N.T.V.T. 2.6. Na fig. 6, o tumor "apical" direito foi cortado ao meio.

A avaliação da fibrose e do aspecto denominado de "sementeira tumoral" que se apresenta sob a forma de pequenos nódulos tumorais superficiais foi qualificada em 3 graus de intensidade — fraca, média e forte — para se conseguir a nota volumétrica tumoral. Esses 3 graus de intensidade receberam as notas — 10, 20 e 30 —, respectivamente e também foram divididos por 100. Os valores encontrados dessa maneira eram somados aos outros valores volumétricos do animal e foram computados na sua nota tumoral volumétrica total.

RESULTADOS EXPERIMENTAIS

A) *Efeito Tumoral Fibróide* — No quadro n.º 1 estão resumidos os resultados, em forma comparada, de todos os grupos de estrogênios implantados. Os quadros sinópticos de 1 a 7 do apêndice dão os detalhes referentes a todos os ani-

mais de cada um dos grupos, separadamente. Os dados se referem em cada grupo à absorção de estrogênio, às metrorragias, ao peso uterino, aos graus de tumorigênese avaliados pelo sistema de notas tumorais e pelo sistema de notas volumétricas que é introduzido, neste trabalho, havendo também outras informações de interesse.

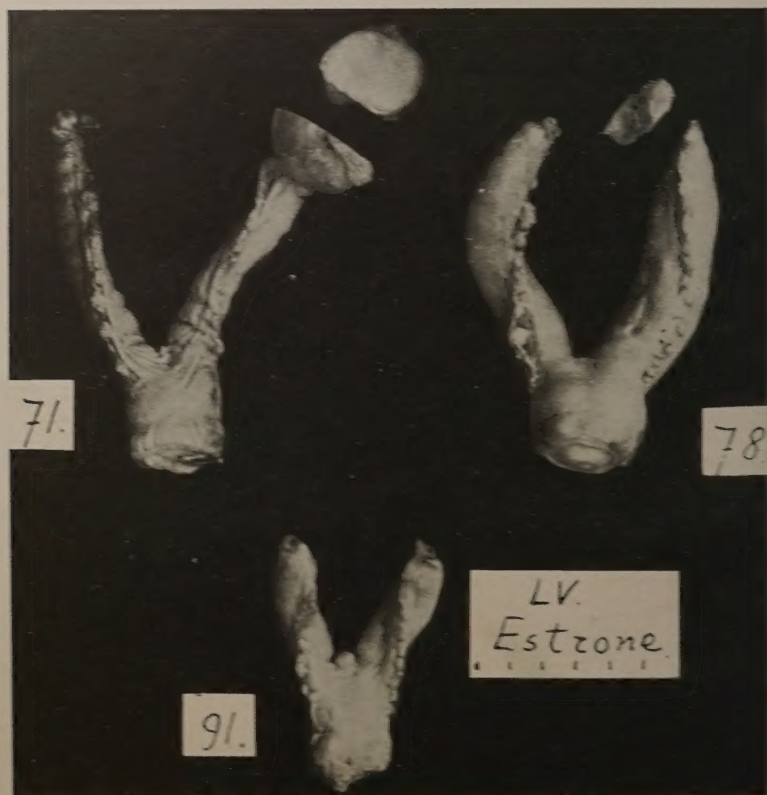


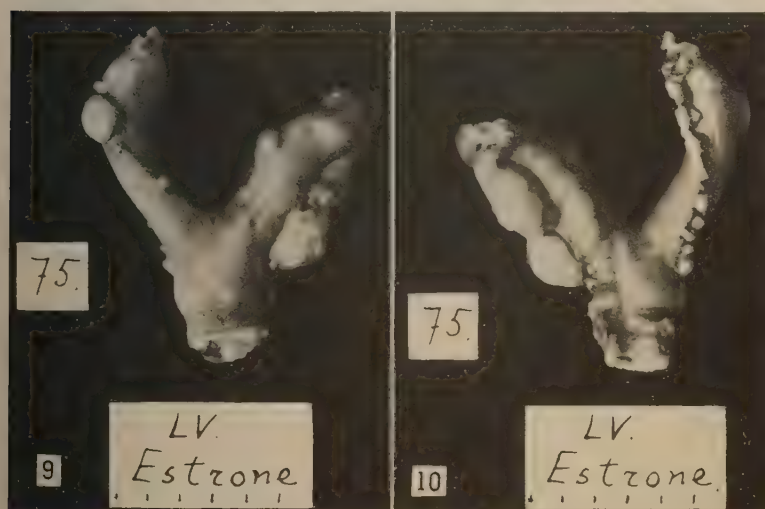
Fig. 8 — Aspecto dorsal das úteros das cobaias. O LV-71 mostra um grande tumor "apical" direito que foi cortado ao meio. Há cadeias de pequenos tumores mesometrais nos dois ramos do útero. Absorção diária de 13,3 microgramas de estrona no decurso de 90 dias. N.T.T. 9,0 e a N.T.V.T. 17,2. Existe um diagrama do LV-78, na fig. 1, que dá a distribuição dos tumores nesse animal. Nos dois cornos uterinos, há cadeias de pequenos tumores mesometrais. O tumor "apical" direito foi cortado ao meio na fig. 8. Absorção diária de 10,9 microgramas de estrona durante 91 dias. N.T.T. 5,0 e a N.T.V.T. 4,0. O LV-91 apresenta um grupo de pequenos tumores mesometrais no ramo uterino esquerdo e um tumor médio entre os dois cornos. Absorção diária média de 12,2 microgramas de estrona em 90 dias. N.T.T. 3,5 e a N.T.V.T. 1,7.

Tanto os estrogênios ováricos, o estradiol e a estrona, como os estrogênios urinários, o estriol, a equilenina, a alfadihidroequilenina e em menor grau, o isômero beta da dihidroequilenina, todos eles foram tumorigênicos depois de 90 dias de implantação.

Os tumores fibróides experimentais induzidos pela implantação dos estrogênios, acima referidos, tiveram uma localização e uma distribuição genital e

extra-genital. Eram tumores sub-serosos, parametraes e mesometraes, sendo frequentemente múltiplos. Nunca foram achados tumores no tórax. Na cavidade abdominal, encontraram-se tumores localizados, no ápice uterino, no corpo do útero, na face peritonial da vagina, no estômago, no intestino, no baço, no pâncreas, no ligamento gastro-hepático, na face inferior do diafragma, na parede abdominal, no mesentério, etc.

Os tumores são comumente de cor esbranquiçada e consistentes, sendo muitas vezes de caráter infiltrativo. A reação tumoral manifesta-se também por uma fibrose que frequentemente acompanha os tumores, sendo vista no ápice do útero, no estômago, no intestino, no baço, na parede abdominal e nos mesos dos órgãos, etc., tomando algumas vezes, a forma de bridas fibrosas. Há uma outra reação tumoral que se mostra sob a forma de nódulos tumorais múltiplos, comumente disseminados na superfície dos órgãos, sendo por causa do seu aspecto denominada de "sementeira tumoral".



Figs. 9 e 10 — Na fig. 1, há um diagrama que mostra a distribuição dos tumores no LV-75. O útero do LV-75 na fig. 9 é visto em sua face ventral e na fig. 10 foi tomado pelo lado dorsal. Tumores uterinos "apicais". Grandes tumores mesometraes no corno uterino esquerdo. Cadeia de pequenos tumores mesometraes na ramificação direita do útero. Absorção diária média de 12,2 microgramas de estrona em 90 dias. N.T.T. igual a 8,5 e a N.T.V.T. igual a 18,8.

Houve também em muitos animais, outros fenômenos de natureza tóxica provocados pelos estrogênios, como sejam, metrorragias, queda da pelagem, ulcerações vulvares, etc.

No grupo do estradiol, além dos tumores, houve também alguns casos de peritonite, como por exemplo nos animais 57 e 61. O animal 57 apresentou uma placa de peritonite necrótica purulenta localizada no corno uterino esquerdo e desenvolvimento de aderências no direito.

Nos grupos da estrona, já com 30 dias depois da implantação, observou-se a presença de tumores, como foi visto no animal 76 que morreu antes que se

terminasse o prazo da experiência. Idêntica observação foi feita, nos animais 85 e 89, que apresentaram tumores 40 dias depois da implantação. O 90a além de tumores genitais e extra-genitais, exibiu uma grande massa tumoral sôbre o corno uterino esquerdo em cujo centro havia uma cavidade com as paredes necrosadas e com um conteúdo purulento.



Fig. 11 — A distribuição dos tumores do LV-4 pode ser vista no diagrama existente na fig. 2. Dois grandes tumores estão localizados na linha mesometral, um em cada corno uterino, havendo outros tumores pequenos. Absorção diária média de 116,6 microgramas de estriol no decurso de 90 dias. A Nota Tumoral Total (N.T.T.) foi 7,5 e a Nota Tumoral Volumétrica Total (N.T.V.T.) teve o valor de 41,3. O LV-5 mostra tumores uterinos mesometriais. Houve tumores de tamanho médio na face posterior da vagina. Um tumor "apical" cístico do corno uterino direito aderido ao intestino foi seccionado ao meio na fig. 1. A fotografia apanhou a face dorsal do útero. Absorção diária média de 88,8 microgramas de estriol durante 90 dias. N.T.T. 8,5 e a N.T.V.T. 17,5. O útero do LV-9 é visto pela face dorsal. Apresenta um grupo de pequenos tumores mesometriais na ramificação direita do útero e um tumor de tamanho médio, no corno uterino esquerdo. Há um tumor "apical" cístico, no corno uterino esquerdo, tendo sido cortado ao meio na fig. 1. N.T.T. 6,0 e a N.T.V.T. 23,3.

Os animais implantados com estriol tiveram tumores bem volumosos. No animal n.º 1 houve, além dos tumores, uma necrose nos dois cornos uterinos e o desenvolvimento de aderências com os planos musculares.

O grupo implantado com a equilenina mostrou tumores muito grandes, muitas vezes infiltrativos e em alguns casos, zonas de necrose nos cornos uterinos. Assim, ocorreu nos animais 12, 24 e 25 que tiveram notas altas do efeito tumoral.

Os grupos implantados com os isômeros alfa e beta da dihidroequilenina também exibiram tumores. O isômero alfa foi mais ativo que o isômero beta, provocando tumores bem grandes e algumas vezes infiltrativos, havendo, em alguns animais, peritonite. O n.º 30 apresentou o corno uterino direito deformado com aderências com o epiploon, além de zonas de necrose no corno esquerdo, havendo uma peritonite bilateral localizada. Devem ser mencionados, também, o 37, 40, 44 e 53 que exibiram graus significativos de tumorigênese.

Os diagramas e as macrofotografias, no texto, dão uma idéia objetiva da tumorigênese em todos os grupos implantados com estrogênio. Como se vê, a tumorigênese manifestou-se em todos os grupos, sem exceção. Os gráficos das figuras 16 e 17 do texto dão a relação entre os graus de tumorigênese pelos dois sistemas de avaliação mencionados atrás, e a absorção diária de estrogênio de cada um dos animais em todos os grupos.

Os dados existentes no quadro n.º 1 são expressivos. Os estrogênios ováricos, a estrona e o estradiol, foram implantados, como já dissemos, sob a forma de cilindros e de pequenos fragmentos de tabletas. O grupo do estradiol apresentou uma absorção total média por animal de 1,7 mg. Todos os animais tiveram tumores maiores que a classe 1 e a nota tumoral total do grupo foi de 4,9, sendo a nota volumétrica total de 3,3.

Empregamos estronas de duas proveniências. A absorção total média foi em ambas de 1,1 mg. A nota tumoral total para cada um dos grupos de estrona foi de 3,4 e de 2,8, e a nota volumétrica total foi para um grupo de 3,8 e para o outro de 7,0. A frequência tumoral foi em um grupo de 53% e no outro, 75%.

Os estrogênios urinários foram todos eles implantados sob a forma de tabletas que tiveram um peso inicial médio que oscilou de 24,2 mg. (estriol) até 38,9 mg. (equilenina). A absorção total média variou entre eles de 8,6 mg. (equilenina) a 12,2 mg. (betadihidroequilenina). As notas tumorais totais foram de 1,7 com a betadihidroequilenina até um máximo de 4,8 com a alfadihidroequilenina. As notas volumétricas totais foram de 1,4 com a betadihidroequilenina até 12,4 com a equilenina. A frequência tumoral teve o seu mínimo com o isômero beta de dihidroequilenina, 33% e o seu máximo com o estriol, 93%.

Os estrogênios urinários, excluindo a betadihidroequilenina, nas condições quantitativas, aqui existentes, apresentaram valores pelo sistema de notas tumorais que são ou superiores aos valores apresentados pelos estrogênios ováricos, quando comparados com a estrona ou quase iguais, como ocorre com alguns grupos de estrogênios urinários, quando comparados com o estradiol (ver o quadro n.º 1).

Os valores apresentados pelo sistema de notas volumétricas mostram graus de tumorigênese dos estrogênios urinários maiores que aqueles alcançados pelos estrogênios ováricos, excluindo a betadihidroequilenina.

Nas condições quantitativas, aqui empregadas, todos os estrogênios foram tumorigênicos pelos dois sistemas de avaliação do efeito tumoral. Com essas



Fig. 12 — O LV-12 cujo diagrama existente na fig. 2 mostra a localização dos tumores, apresentou numerosos e grandes tumores uterinos. O grande tumor "apical" direito foi cortado ao meio na fig. 12. Há uma zona de necrose no corno uterino direito. Absorção diária média de 39,8 microgramas de equilenina em 89 dias. N.T.T. 8,0 e a N.T.V.T. 68,0.

O útero do LV-14 mostra numerosos tumores, tendo sido observadas, também, zonas de necrose nos dois cornos uterinos. Os tumores "apicais" bilaterais foram cortados ao meio na figura 12. Absorção diária média de 77,5 microgramas de equilenina em 89 dias. N.T.T. 6,5 e a N.T.V.T. 15,1.

O diagrama do LV-24 na fig. 2 indica a localização de todos os tumores. O útero do LV-24 mostra muitos tumores mesométrais. O tumor "apical" direito aderido ao intestino delgado foi cortado ao meio na fig. 12. A grande massa tumoral que envolve a face posterior da vagina vista no diagrama da fig. 2 foi seccionada ao meio, na fig. 12. Absorção diária de 115,7 microgramas de equilenina em 89 dias. N.T.T. 6,0 e a N.T.V.T. 65,8.

O LV-25 apresenta grandes e numerosos tumores uterinos. Alguns estão localizados na linha mesometral. Há um tumor na base do útero. O grande tumor "apical" direito que envolve a extremidade superior do corno uterino correspondente, estava aderido ao caecum e ao colon. Absorção diária de 101,1 microgramas de equilenina em 89 dias. N.T.T. 7,0 e a N.T.V.T. 30,5.

grandes quantidades, a ação tumorigênica dos estrogênios urinários foi tão grande ou até maior que a dos estrogênios ováricos, como se vê pelos valores alcançados pelo efeito tumoral.



Fig. 13 — O útero do LV-30 apresenta uma massa tumoral que envolve o corno direito que está deformado. Há um tumor na união das duas ramificações uterinas. Houve também uma peritonite bilateral localizada e aderências do corpo uterino direito ao epíplon. Na fig. 13, o útero é visto em corte. Absorção diária de 95,5 microgramas de alfa-dihidroequilenina em 90 dias. N.T.T. 6,5 e a N.T.V.T. 22,5.

O diagrama do LV-37, na fig. 2 elucida a tumorigênese em todo o animal. O útero apresenta muitos tumores, sendo que um deles é enorme e está localizado na linha mesometral do corno uterino esquerdo. Há um tumor na união dos dois cornos. O tumor "apical" direito foi aberto, na fig. 13. Absorção diária de 135,5 microgramas de alfa-dihidroequilenina em 90 dias. N.T.T. 10,0 e a N.T.V.T. 36,6.

O diagrama da fig. 2 indica a reação tumoral e a distribuição de tumores no LV-40 cujo útero está na fig. 13. Há um grande tumor mesometral, no corno uterino direito e dois tumores "apicais" bilaterais, sendo que um deles foi aberto ao meio na fig. 13. Existem zonas de necrose nos dois cornos uterinos. Absorção diária de 100,00 microgramas de alfa-dihidroequilenina em 90 dias. N.T.T. 9,0 e a N.T.V.T. 13,3.

Entre todos os estrogênios, o isômero beta da dihidroequilenina teve o menor grau de tumorigênese pelos dois sistemas de avaliação do efeito tumoral, não deixando nem por isso de manifestar um certo efeito tumoral. O isômero alfa da dihidroequilenina foi muito mais tumorigênico que o isômero beta, dando valores da tumorigênese muito maiores que o outro pelos dois sistemas de avaliação do efeito tumoral. É extremamente interessante essa diferença na ação tumorigênica desses dois isômeros.

B¹ Absorção Comparada e Ação Tumorigênica — No quadro n.º 2 estão resumidas as indicações referentes à absorção média, à percentagem de absorção, à absorção diária, etc. Alguma outra indicação poderá ser encontrada, no quadro n.º 1 e de 1 a 7, no apêndice. Os gráficos das figs. 16 e 17 dão a relação entre o grau de tumorigênese e a absorção diária dos animais de todos os grupos pelos dois sistemas de avaliação do efeito tumoral. (No quadro n.º 2 e nos gráficos das figs. 16 a 18, o LV-9 do grupo do estriol foi omitido dos cálculos da absorção diária).

Como desejássemos aumentar a concentração dos estrogênios urinários, no organismo, ampliamos a superfície de absorção com o emprego de comprimidos maiores (ver o quadro n.º 2). O cálculo de absorção por milímetro quadrado foi feito de uma maneira simplificada, levando-se em conta a absorção média. O diâmetro dos cilindros era medido e determinou-se a altura de um cilindro de peso médio com o auxílio de um papel milimetrado e com a ajuda de uma lupa. Uma vez conseguidas essas dimensões, calculava-se a superfície com o emprego da fórmula geométrica indicada para o caso, assim obtendo-se as superfícies correspondentes aos cilindros e às tabletas.

Quadro n.º 2

ABSORÇÃO COMPARADA DOS ESTROGÊNIOS IMPLANTADOS

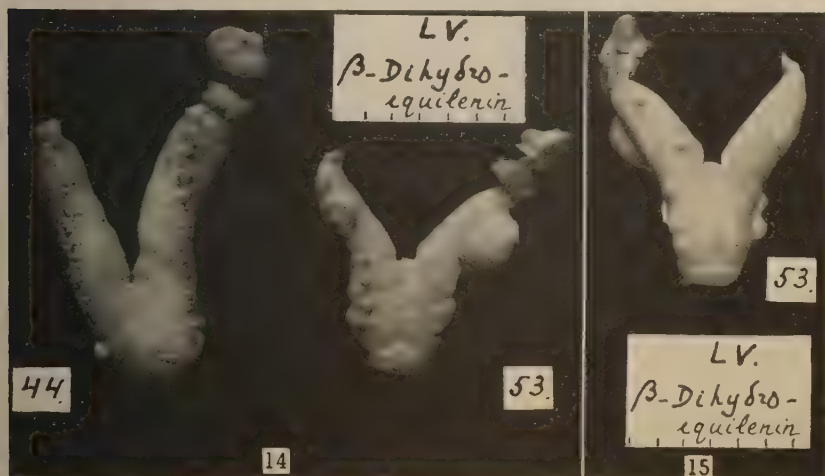
HORMÔNIOS IMPLANTADOS	NÚMERO DE ANIMAIS	DURAÇÃO DA EXPERIÊNCIA EM DIAS	COMPRIMIDOS						
			PESO		ABSORÇÃO				
			Inicial Médio mg	Final Médio mg	Total Média mg	Porcentagem %	DIÁRIAS EM MICROGRAMAS		
							Mínima e Máxima	Média	Por mil-
<i>Estrogênios orais:</i>									
Alfa-estradiol...	10	90	3,3	1,6	1,7	51	13 24	19	
Estrona (P. Davis & Co.)	15	90	3,4	2,3	1,1	32	8 20	13	1,2
Estrona (Ciba).....	12	90	3,3	2,2	1,1	33	10 15	12	1,2
<i>Estrogênios urinários:</i>									
Estriol	15	90	24,2	14,2	10,0	41	89 146	116	2,0
Fenilestrenona	15	89	38,9	30,3	8,6	22	74 135	97	1,8
Alfa-dihidroequilenina	12	90	31,5	21,5	10,0	32	77 164	111	2,0
Beta-dihidroequilenina	12	90	37,7	21,5	12,2	36	58 180	136	2,5

O diâmetro dos cilindros foi de 1,6 mm. e o diâmetro das tabelas foi de 5,0 mm. A superfície dos cilindros foi de 11 mm. quadrados e a superfície das tabletas, 55 mm. quadrados.

Apesar destes cálculos serem de uma exatidão relativa, eles nos servem por causa das enormes diferenças que há na velocidade de absorção por superfície entre os estrogênios ováricos e os estrogênios urinários, respectivamente.

Os pesos iniciais médios dos comprimidos de estrogênio urinário, como já referimos, foram de 7 a 11 vezes maiores que os de estrogênio ovárico, produzindo assim uma maior absorção de metahormônios. A maior percentagem de absorção nos grupos com estrogênios ováricos e urinários foi revelada pelo estradiol e pelo estriol e a menor pela estrona e pela equilenina.

Entretanto, é claro que só se pode levar em consideração os resultados do cálculo por unidade de superfície por causa das diferenças nos pesos e especialmente em vista da distinta forma dos comprimidos nos diversos grupos. Então vemos que a velocidade de absorção de todos os metahormônios é de 50 a 100 por cento maior que a da estrona. Isto comprova os resultados comparativos de THIBAUT. Não pudemos fazer o cálculo por unidade de superfície para o alfa-estradiol porque foi usado sob a forma de pequenos fragmentos de tabletas de feição irregular em vez de cilindros.



Figs. 14 e 15 — Os diagramas correspondentes aos animais LV-44 e 53 acham-se na fig. 2. As macrofotografias dos úteros estão na fig. 14 e 15.

O útero do LV-44 mostra uma cadeia de tumores mesometrais pequenos nos dois cornos uterinos. Há também tumores "apicais" envolvidos por intensa fibrose. O tumor "apical" direito foi seccionado ao meio na fig. 14 e no diagrama da fig. 2 está aderido ao polo inferior do rim. Absorção diária de 136,6 microgramas de beta-dihidroequilenina em 90 dias. N.T.T. 5,5 e a N.T.V.T. 2,3.

O LV-53 apresenta numerosos tumores uterinos, estando alguns grandes tumores localizados na linha mesometral. Entre os dois cornos uterinos é visto um tumor. O tumor "apical" direito foi cortado ao meio nas figs. 14 e 15. A fig. 14 mostra a face dorsal e a fig. 15, a face ventral do útero. Absorção diária média de 131,1 microgramas de beta-dihidroequilenina durante 90 dias. N.T.T. 5,5 e a N.T.V.T. 11,1.

A absorção total diária média foi nos grupos com estrogênios urinários de 5 a 7 vezes maior que a dos grupos com estrogênios ováricos, quando comparada

com a do alfa-estradiol, ou de 8 a 11 vezes maior, quando comparada com a da estrona.

Na tumorigenese de todos os grupos com estrogênios ováricos e urinários, vemos que a maior nota tumoral total média foi alcançada pelo alfa-estradiol com 4,9, tendo uma absorção total média de 1,7 mg. e com uma média de 19 microgramas diárias.

Entre os estrogênios urinários, houve valores de notas tumorais, como de 4,3 para o estríol e de 4,8 para a alfadihidroequilenina, mas que foram conseguidos com uma absorção total diária média de 116 microgramas para o estríol e de 111 microgramas para a alfadihidroequilenina. A betadihidroequilenina, apesar de apresentar a maior absorção total média de todos os grupos que foi de 12,2 mg. e a maior absorção total diária média que foi de 136 microgramas, teve entretanto o menor grau tumoral, sendo assim a menos tumorigênica entre os estrogênios aqui estudados (ver o quadro n.º 1 e os gráficos das figs. 16 e 17).

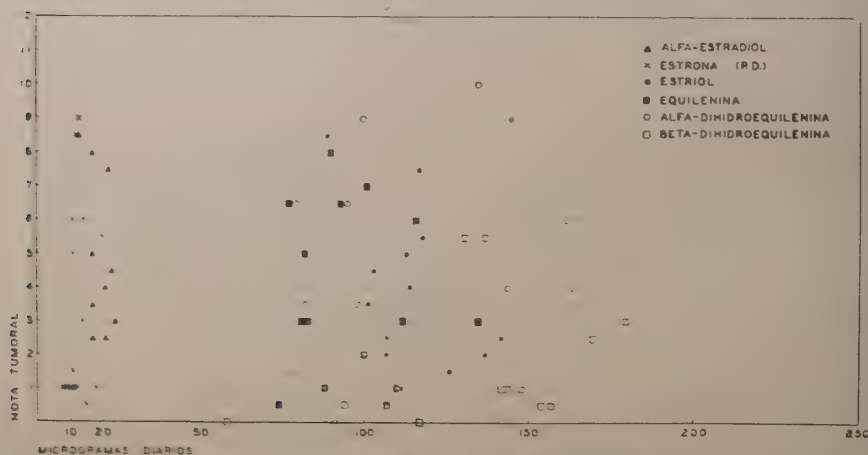


Fig. 16 — Relação entre a absorção diária em microgramas e a nota tumoral total de cada animal em todos os grupos com estrogênio.

Parece ficar claro que os estrogênios urinários podem ser tão tumorigênicos como os estrogênios ováricos, dependendo somente das quantidades que forem absorvidas pelo organismo. Em quantidades iguais, como já sabemos, os estrogênios urinários são menos tumorigênicos que os estrogênios ováricos. Porém, com o aumento da quantidade absorvida de estrogênio urinário e com o acréscimo de sua concentração, no organismo, há também um aumento da sua ação tumorigênica.

É muito provável que o isômero beta da dihidroequilenina com a absorção de uma maior quantidade alcance também uma ação tumorigênica equivalente a dos estrogênios ováricos. Seria assim uma questão de limiar e de concentração de estrogênio, no organismo.

C. Ação Histerotrófica — No quadro n.º 1 estão reunidos os pesos uterinos médios de todos os grupos com estrogênio e no gráfico da fig. 18, o peso do útero de cada animal esta relacionado com a sua absorção diária em microgramas.

O pêso do útero de uma cobáia jovem adulta oscila geralmente de 1 a 1,5 g. A quantidade mínima necessária de estrogênio introduzido, no organismo, em solução oleosa administrada em três injeções subcutâneas por semana para manter o pêso uterino normal, no decurso de 90 dias, foi denominada por LIPSCHÜTZ, como sendo a "dose histerotrófica útil". O limiar histerotrófico útil e o limiar tumorigênico baseado também em injeções subcutâneas são diferentes e variáveis de acôrdo com a estrutura química de cada estrogênio.

O estrogênio em uma maior concentração no organismo e em sua ação continua, atinge e passa o limiar histerotrófico útil, exercendo depois uma ação histerotrófica tóxica. Essa ação histerotrófica tóxica se manifesta, macroscopicamente, em um aumento de pêso e de tamanho do útero, e microscopicamente por meio de alterações histológicas, como a proliferação e a metaplasia do endométrio, a formação de pólipos, etc.

Nas nossas experiências, os pesos uterinos indicam que tanto os estrogênios ováricos, como os estrogênios urinários específicos exerceram uma ação histerotrófica tóxica.

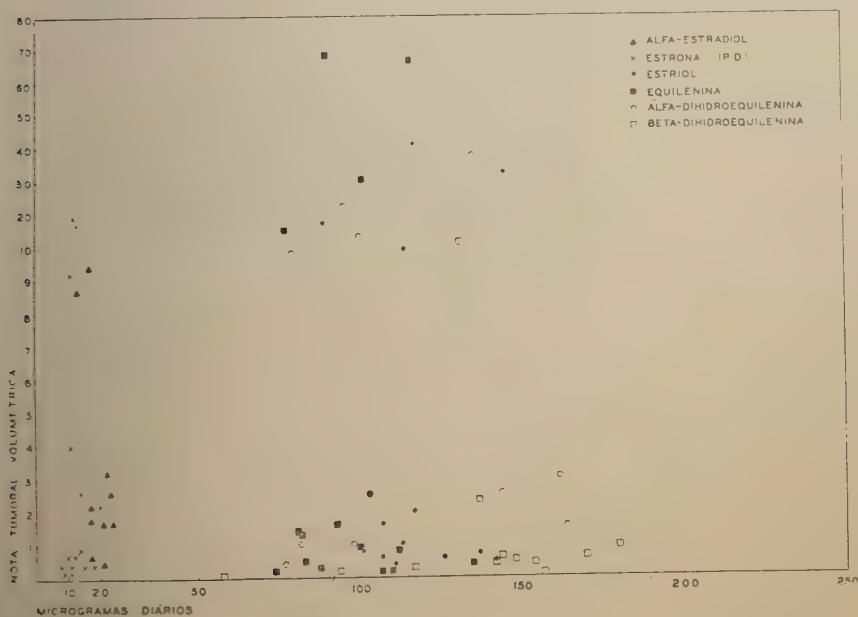


Fig. 17 — Relação entre a absorção diária em microgramas e a nota tumoral volumétrica total de cada animal em todos os grupos com estrogênio.

Os valores médios dos pesos uterinos mostram que não só os estrogênios urinários específicos podem atingir valores iguais, mas que também podem passar os valores médios obtidos pelos estrogênios ováricos. Mas enquanto que os valores dos grupos com estrogênios ováricos foram alcançados por uma absorção diária média que foi de 12 (estrona) até 19 (estradiol) microgramas, os valores médios dos pesos uterinos nos grupos com estrogênios urinários foram obtidos,

em nosso trabalho, por meio de uma absorção diária média bem maior que foi de 97 (equilenina) até 136 (betadihidroequilenina) microgramas (ver os quadros ns. 1 e 2 e o gráfico da fig. 18). Apesar do peso do útero ser com tumores, os valores atingidos são expressivos. É interessante notar que os pesos médios uterinos de todos os grupos se colocam em torno de um valor médio geral de 6,2 que seria a média das médias.

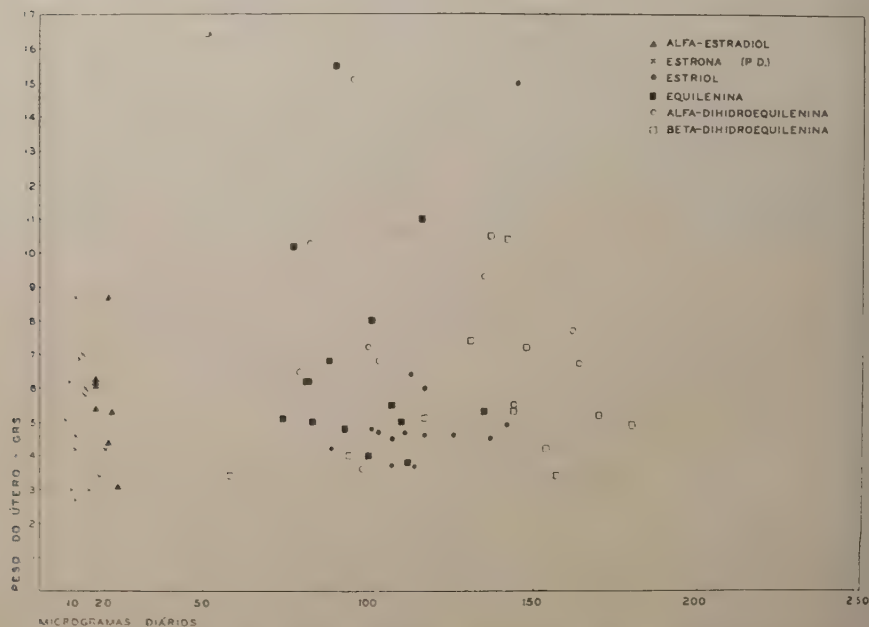


Fig. 18 — Relação entre a absorção diária em microgramas e o peso do útero de cada animal em todos os grupos com estrogênio.

Um fato muito importante para o qual deve ser chamada a atenção é que os pesos uterinos anormais, característicos da ação tóxica do estradiol e da estrona, podem ser também atingidos por quantidade de estriol e de equilenina que são, no entanto, pouco fibromatogênicas (THIBAUT).

Em nosso trabalho este interessantíssimo fenômeno se apresenta, em especial, no caso da betadihidroequilenina que apesar de ter mostrado o menor grau de tumorigênese entre todos os estrogênios, aqui estudados, não exibiu, nas quantidades que empregamos uma ação histerotrófica que fosse inferior a dos outros estrogênios, tendo apresentado um valor médio do peso uterino bastante elevado, igual aos demais metahormônios. O limiar tumorigênico da betadihidroequilenina, muito provavelmente, seria mais alto que o dos outros estrogênios, necessitando assim de uma maior concentração de hormônio no organismo para atingir graus equivalentes de tumorigênese.

É evidente que com as quantidades de betadihidroequilenina que foram absorvidas não alcançamos o limiar suficiente para provocar fibromas, como os demais estrogênios, porém atingimos o limiar histerotóxico.

Apêndice Quadro sinótico n.º 1
COBAIAS CASTRADAS COM FRAGMENTOS DE TABLETAS DE ALFA-ESTRADIOL

Próte- cód- Série	PESO DO ANIMAL				PERDA DO EXPERIMENTO EM DIAS	ELABORAÇÃO DE TABELA				ESTADO DA VAGINA	METROLOGIA				PAPILA MAMÁRIA	COMPROMETIMENTO EM mm	PESO DO TUMOR em gramas	NOTAS TUMORAIS				NOTA TUMORAL TOTAL	NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA	NOTAS TUMORAIS VOLUMÉTRICAS				NOTA TUMORAL TOTAL	NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA									
	N.º	Na castracão	Inicial	Final		PESO mg	ABSORÇÃO	Total mg	Tumores uterinos		Tumores apicais	Tumores de Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Bazo	Tumores uterinos				Tumores apicais	Tumores de Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Bazo	NOTA TUMORAL TOTAL			NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA	Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores de Ap. Digest. e da parede abdominal			Tumores do Bazo	NOTA TUMORAL TOTAL	NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA	Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores de Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Bazo	NOTA TUMORAL TOTAL	NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA
55	500	530	510	90	3,3	1,8	1,5	16,0	Ab				0	2	0,5 f.	0	2,5	0,66	0,66	0,2	0,2	0,2	0,2	0,66	0,66	0,2	0,2	0,66	0,66	0,66	0,66							
56	370	610	530	90	3,0	1,5	1,5	16,6	Ab				3	3	1	1	8,0	8,0	8,0	0,1	0,5	0,2	0,2	0,4	0,4	8,0	0,1	0,5	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4					
57	410	550	510	90	3,2	2,0	1,2	13,3	Ab				3	3	2	0,5 s.	8,5	8,5	7,1	0,2	1,2	0,2	0,2	8,7	8,7	7,1	0,2	1,2	0,2	0,2	0,2	8,7	8,7	8,7	8,7			
58	370	560	530	90	3,5	1,3	2,2	21,3	F				0	2	0,5 f.	0,5 s.	3,0	3,0	1,4	0	0,1	0,2	0,2	1,7	1,7	1,4	0	0,1	0,2	0,2	0,2	1,7	1,7	1,7	1,7			
59	340	650	510	90	3,0	1,5	1,5	16,6	Ab				1	3	0,5 f.	0	3,5	3,5	1,4	0,2	0,2	0	1,8	1,8	1,4	0,2	0,2	0	0	0	1,8	1,8	1,8	1,8				
60	450	650	600	90	4,0	2,0	2,0	24,2	Ab				0	1	3	0,5 s.	7,5	7,5	2,1	0,2	0,5	0,4	3,2	3,2	2,1	0,2	0,5	0,4	0,4	0,4	3,2	3,2	3,2	3,2				
61	450	650	550	90	3,0	0,9	2,1	23,3	Ab				0	1	1 L.	0,5 s.	4,5	4,5	2,3	0	0,2	0,1	2,0	2,0	2,3	0	0,2	0,1	0,1	0,1	2,0	2,0	2,0	2,0				
62	350	570	500	90	3,5	2,0	1,5	16,6	Ab				0	2	2	2	5,0	5,0	0,7	0,1	1,0	0,4	2,2	2,2	0,7	0,1	1,0	0,4	0,4	0,4	2,2	2,2	2,2	2,2				
63	400	580	460	90	4,0	2,1	1,9	21,1	Ab				0	6	0,5 t	1 f. s.	4,0	4,0	0,2	0,2	0,4	0,9	1,7	1,7	0,2	0,2	0,4	0,9	0,9	0,9	1,7	1,7	1,7	1,7				
64	400	640	550	90	3,2	1,3	1,9	21,1	Ab				1	3	1	0	2,5	2,5	0,1	0,3	0	0,1	0,5	0,5	0,5	0,1	0,3	0	0,1	0,1	0,1	0,5	0,5	0,5	0,5			

Apêndice — Quadro sinótico n.º 2

COBAIAS CASTRADAS COM CILINDROS DE ESTRONA (PARKE DAVIS & CO.)

Prato coberto	PESO DO ANIMAL		CEREBRO		NOTAS TUMORAIS		NOTAS TUMORAIS VOLVULARES		NOTAS TUMORAIS VOLVULARES		NOTA TUMORAL VOLVUL.	NOTA TUMORAL VOLVUL.
	P	Final	P	Final	P	Final	P	Final	P	Final		
Nº	Nº	Final	Nº	Final	Nº	Final	Nº	Final	Nº	Final	Nº	Final
70	400	500	500	500	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
71	450	500	500	500	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
72	300	600	500	500	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
73	200	600	600	600	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
74	380	600	600	600	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
75	200	600	600	600	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
76	300	420	500	500	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
77	400	600	600	600	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
78	200	600	600	600	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
79	300	400	500	500	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
80	400	600	600	600	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
81	100	200	300	300	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
82	320	300	400	400	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
83	100	500	500	500	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1
84	400	500	500	500	90	1,0	1,0	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1

Apêndice — Quadro sinótico n.º 3
COBAIAS CASTRADAS COM CILINDROS DE ESTRONA — (C I B A)

Procedo- colo Série L.V.	N.º	PESO DO ANIMAL			* CILINDROS *			ESTADO DA VAGINA	METORRACIA	PAPILA MAMÁRIA	COMPROMISSO CM MM	PESO DO TÍTERO	NOTAS TUMORAIS				NOTA TUMORAL TOTAL	NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA	NOTAS TUMORAIS VOLUMÉTRICAS				NOTA TUMORAL VOLT.MÉ- TRICA TOTAL	NOTA TUMORAL VOLT.MÉ- TRICA TOTAL MÉDIA
		Na caudal	Final	Final	PESO mg	Total	Métricos por ca- lindro						Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Bazo								
85		370	400	520	2,8	1,9	0,9	0,8	Ab.	0	0	14,2	0	0	0,5 f.	0	0	0,1	0,1	0	0	0,2	0,2	
86		280	470	420	3,5	2,5	1,0	11,1	Ab.	3	3	5,8	0	0,5 f.	0,5 f.	0,5 t.	1,5	0	0,2	0,3	0,4	0,4	0,0	0,0
87		480	650	630	2,8	2,4	1,4	15,5	Ab.	0	5	5,5	0,5 t.	0,5 f.	0,5 f.	0,5 f.	2,0	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	1,1	1,1
88		430	400	510	3,1	2,0	1,1	12,0	Ab.	4	4	3,3	0	0,5 f.	0	0,5 f.	1,0	0	0,1	0	0,3	0,4	0,4	0,4
89		320	350	480	3,2	2,2	1,0	10,9	Ab.	0	5	8,0	2	0	0,5 f.	0	2,5	2,3	0,1	0,1	0,1	0,1	2,6	2,6
90		410	430	480	3,0	1,8	1,2	13,1	Ab.	0	5	21,0	3 t.	3 t.	2 t.	1 t.	9,0	56,7	0,1	3,0	0,7	60,5	7,0	7,0
91		300	530	460	3,5	2,4	1,1	12,2	F.	0	4	3,3	2	1	0	0,5 a.	3,5	0,8	0,2	0,3	0,4	1,7	1,7	1,7
92		450	510	510	3,8	2,8	1,0	11,1	F.	0	4	4,7	1	0	0	0,5 t.	1,5	0,08	0,2	0,1	0,1	0,48	0,48	0,48
93		410	520	520	3,8	2,7	1,1	12,2	F.	0	3	4,0	0	0	1 f.	0	1,0	0,3	0,2	0,3	0,3	1,1	1,1	1,1
94		330	500	550	3,2	1,9	1,3	14,4	Ab.	0	2,5	4,4	1	0,5 f.	0,5 f.	0	2,0	1,0	0,2	0	0,2	1,4	1,4	1,4
95		400	450	520	3,1	2,0	1,1	11,9	Ab.	0	7,0	7,7	0	3	0,5 f.	3	0,5	0,4	0,3	0,2	5,6	12,5	12,5	12,5
96		230	500	530	3,5	2,1	1,4	15,5	Ab.	0	4	3,1	0	1 t.	2	0,5 f.	3,5	0,06	0,3	0,6	0,2	1,16	1,16	1,16

Apêndice — Quadro sinótico n.º 4
COBAIAS CASTRADAS COM TABLETAS DE ESTRÍOL

Prato- colo	PÊSO DO ANIMAL		DEBILIDADE DA EXPERIÊNCIA		TABLETA INTERNA		ESTADO DA VAGINA	METRORRAGIA	CAPILAR COMPRIMENTO EM MM	PÊSO DO ÚTERO K	NOTAS TUMORAIS				NOTAS TUMORAIS VOLUMÉTRICAS				NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA	NOTA TUMORAL TOTAL	NOTA TUMORAL VOLUM- TRICA TOTAL	NOTA TUMORAL VOLUM- TRICA MÉDIA				
	Série LV	g	Inicial	Final	pêso mg	absorção por dia					Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Baço	Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Baço					Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Baço
1	400	600	90	400	23,0	9,9	13,1	145,5	Ab.	0	6	15,0	2	3	2	2	9,0	28,7	0,2	2,8	0,5	32,2				
2	420	550	90	430	23,0	13,4	9,6	106,6	F.	+	5	3,7	0	1 f.	0,5	2,5	0,01	0,2	0,3	0,1	0,61					
3	230	560	90	500	20,6	10,3	10,3	114,4	Ab.	0	3	3,7	0	3	0,5 f.	4,0	9,1	0,3	0,3	0,2	9,9					
4	425	660	90	540	23,0	12,5	10,5	116,6	Ab.	+	4	6,2	3	1	3	0,5 s.	7,5	38,9	0,1	2,1	0,2	41,3				
5	400	660	90	550	18,0	10,0	8,0	88,8	S Ab.	0	5	4,2	3	3	2	0,5 f.	8,5	9,7	0,3	7,3	0,2	17,5				
6	430	570	90	480	28,7	19,4	9,3	103,3	Ab.	0	4	4,7	2	2	0,5 s.	4,5	2,1	0,2	0,1	0,1	2,5					
7	300	630	90	500	28,3	16,0	12,3	136,6	F.	0	3	4,5	0	1	0,5 f.	2,0	0,18	0,2	0,2	0,1	0,68					
8	450	570	90	420	19,1	9,5	9,6	106,6	S Ab.	+	3	4,5	0	1	0,5 f.	2,0	0,9	0,2	0,3	0,2	1,6					
9	355	600	90	460	22,3	18,9	3,4	97,7	Ab.	0	2	6,8	3	3	0	6,0	23,1	6,2	0	0	23,3					
10	420	530	90	480	27,5	18,4	9,1	101,1	Ab.	0	4	4,8	1	1	0,5 f.	3,5	0,3	0,3	0,08	0,1	0,78					
65	450	650	91	550	24,3	14,0	10,3	113,1	F.	0	5	6,4	2	2	0,5 f.	5,0	0,6	0,1	0,2	0,1	1,0					
66	440	600	91	520	25,8	12,9	12,9	141,7	Ab.	0	4	4,9	0,5 f.	1 f.	0,5 f.	2,5	0,08	0,2	0,1	0,1	0,48					
67	420	650	91	540	23,8	13,1	10,7	117,5	Ab.	0	4	4,6	0	2	3	0,5	5,5	0,12	0,2	1,5	0,2	2,02				
68	440	670	91	550	29,8	19,7	10,1	110,9	S Ab.	0	7	4,7	0	0	0,5 f.	1,0	0	0,1	0,2	0,1	0,4					
69	380	530	91	500	26,5	15,0	11,5	126,3	Ab.	0	3	4,6	0	0,5 f.	0,5 s.	1,5	0	0,2	0,2	0,2	0,6					

Apêndice Quadro sinótico n.º 3
COBAIAS CASTRADAS COM TABLETAS DE EQUILENINA

Praticado Série L.V.	PESO DO ANIMAL			DURAÇÃO DA EXPERIMENTAÇÃO em dias	TABELA INICIAL			ESTADO DA VAGINA	METRORRAGIA	PAPILA MÁXIMA COMPROMETIMENTO EM mm.	PESO DO ÚTERO g	NOTAS TIPOICAS				NOTAS TIPOICAS VOLUMÉTRICAS					
	Na cabeça	Inicial	Final		PESO mg	Total	Análise					Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores de Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Baço	NOTA TIPOICAL TOTAL	Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Baço	NOTA TIPOICAL TOTAL
11	315	550	540	85	43,0	33,5	9,5	102,7	Ab.	+	4	5,5	0	0	0,5 f.	0	0	0,1	0,1	0	0,2
12	280	520	550	80	42,5	34,5	8,0	89,9	Ab.	+	3	15,5	3	3	2	0	67,5	0,1	0,2	0,2	68,0
13	300	500	450	80	37,5	27,5	10,0	112,3	S/Ab.	0	3	3,8	0	0,5 f.	2	0,5 f.	0	0,3	0,4	0,1	0,8
14	450	550	540	80	35,0	29,0	6,0	77,5	Ab.	+	4	10,2	3	3	0,5 f.	0	14,9	0,2	0	0	15,1
15	310	600	520	80	30,5	23,2	7,3	82,0	Ab.	0	4	6,2	2	3	0	0	1,1	0,2	0	0	1,3
16	330	570	530	80	44,5	32,5	12,0	134,8	S/Ab.	+	3	5,3	2	1	0	0	0,3	0,1	0	0	0,4
17	390	600	570	80	38,2	30,8	7,4	83,1	F.	0	6	5,0	0,5 t.	2	0,5 f.	0	6,1	0,2	0,1	0,1	0,5
18	440	670	560	80	29,0	21,8	7,2	80,8	F.	+	4	6,2	1 t.	0	2	0	0,8	0,1	0,4	0,1	1,4
19	430	520	440	80	38,3	30,0	8,3	83,2	S/Ab.	+	6	4,8	2	2	2	0,5 f.	0,5	0,2	1,1	0,1	1,2
20	430	600	560	80	37,8	31,2	6,0	74,1	Ab.	+	4	5,1	0	0,5 t.	0	0	0	0,2	0	0	0,2
21	245	740	590	80	58,3	48,5	9,8	110,1	Ab.	0	4	5,0	0,5 t.	0,5 f.	0	0	0	0,2	0	0	0,2
22	300	650	500	80	46,4	37,5	8,9	100,0	Ab.	0	4	4,0	0	2	0	0	0,6	0,3	0	0	0,9
23	230	620	520	80	25,5	17,7	7,8	87,6	Ab.	+	4	6,8	0,5 t.	0,5 f.	0	0	0,01	0,3	0	0	0,31
24	300	750	610	80	57,5	47,2	10,3	115,7	Ab.	0	3	11,0	3	3	0	0	65,6	0,2	0	0	65,8
25	335	600	500	80	19,5	10,5	9,0	101,1	Ab.	0	4	8,0	3	3	1	0	20,3	0,3	0,0	0	20,5

Apêndice — Quadro sinótico n.º 6

CORAIAS CASTRADAS COM TABLETAS DE ALFA-DIHIIDROQUINOLINA

Prato nº do Sua	TUBO DO VENTRO			SABIA INTERNA			NOTAS TÍMICAS			NOTAS TÍMICAS VOLTMÉRICAS						NOTA TOTAL MÉDIA					
	Na crista lisa	P		Peso mg	Análise	Total mg	Tímicas apicais	Tímicas do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tímicas do Bazo	NOTA TÍMICA TOTAL	Tímicas uterinas	Tímicas apicais	Tímicas da parede abdominal	Tímicas do Bazo	NOTA TÍMICA VOLTMÉ- RICA TOTAL						
		Imat	Total														Tímicas apicais	Tímicas do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tímicas do Bazo		
																				Imat	Total
26	570	620	90	30,5	21,2	9,3	103,3	Ab	0	4	6,8	3	1	0	0	4,0	2,0	0,2	2,5		
27	350	530	90	29,5	Assente	SS	95,7	Ab	0	2	(0,7)	0	0	0	0	(0)	—	—	—		
28	370	530	90	27,0	18,2	9,8	95,7	Ab	0	3	3,6	0,5 f.	2	0,5 f.	0,5 f.	3,5	0,8	0,1	1,0		
29	350	530	90	24,5	17,6	6,9	70,6	Ab	0	5	6,7	0,5	0	1 f.	0	1,5	0	0	0,3	0,1	0,4
30	330	600	90	32,0	23,4	8,6	95,5	Ab	0	3	16,1	3	3	0,5 f.	0	6,5	21,9	0,2	0,2	0,2	22,5
31	310	560	90	(43,5)	Assente	—	—	F	0	3	(2,0)	0,5 f.	0,5 f.	0	0	(1,0)	—	—	—	—	
32	400	570	90	(35,0)	Assente	—	—	F	0	2	(0,8)	0	0	0	0	(0)	—	—	—	—	
33	300	600	90	30,5	22,3	8,2	91,4	Ab	0	3	6,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	370	440	500	30,5	29,0	7,5	92,0	Ab	0	5	10,3	2	0,5 f.	0,5 f.	0,5 f.	3,5	0,3	0,2	0,2	0,3	1,0
35	320	570	530	20,0	21,0	7,1	78,8	Ab	1	3	6,5	3	3	0,5 f.	0	0,5	9,0	0,2	0	0	9,8
36	420	640	600	38,0	23,4	14,6	162,2	Ab	1	3	7,7	1 f.	3	2	0	0,0	1,8	0	1,0	0,2	3,0
37	400	640	580	34,0	21,8	12,2	135,5	Ab	1	3	9,3	3	3	2	2	10,0	34,8	0	0,9	0,9	36,6
38	400	500	90	32,5	10,5	13,0	144,4	Ab	1	4	5,5	0	0,5	3	0,5	4,0	0	0,2	2,1	0,2	2,5
39	500	500	90	32,0	17,2	14,8	164,4	Ab	0	3	6,7	1	2	1	0	4,0	1,0	0,2	0,3	0	1,5
40	300	570	90	32,0	23,0	9,0	100,0	F	1	3	7,2	3	3	3	0	9,0	10,8	0,2	2,3	0	13,3

Apêndice — Quadro sinótico n.º 7
COBAIAS CASTRADAS COM TABLETAS DE BETA-DINHIDROEQUILENINA

Protor- celo	PESO DO ANIMAL			DURAÇÃO DA EXPERIÊNCIA EM DIAS	TABELA INTERNA			ESTADO DA VAGINA	METORRAGIA	PAPILA MAMÁRIA	COMPRIMENTO EM MM	PESO DO ÚTERO em gr	NOTAS TUMORAIS				NOTA TUMORAL TOTAL MÉDIA	NOTAS TUMORAIS VOLUMÉTRICAS				NOTA TUMORAL VOLUMÉ- TRICA TOTAL	NOTA TUMORAL VOLUMÉ- TRICA TOTAL MÉDIA
	Série I, V	N.º cabeça	Inicial		Final	PESO mg	ABSORÇÃO						Tumores uterinos	Tumores apicais	Tumores do Ap. Digest. e da parede abdominal	Tumores do Bazo							
							Total											Microgram. por dia					
41		350	500	630	90	(47,2)	Ausente	—	—	—	3	(0,4)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
42		400	010	590	90	40,3	23,2	14,1	156,6	Ab.	0	3,4	0	0,5 f.	0	0	0,5 f.	0	0,1	0	0	0,1	0,1
43		410	000	550	90	25,0	8,8	10,2	180,0	Ab.	0	4,9	0,5 t.	2	0,5 f.	0	3,0	0,2	0,3	0,3	0,1	0,9	0,9
44		300	540	580	90	31,8	19,5	12,3	130,6	Ab.	0	10,5	2	3	0	0,5 s.	5,5	1,9	0,3	0	0,1	2,3	2,3
45		300	560	540	90	43,3	28,0	15,3	170,0	Ab.	0	5,2	2	0	0	0,5 t.	2,5	0,2	0,2	0,1	0,1	0,6	0,6
46		320	560	560	90	(36,5)	Ausente	—	—	—	1,5	(0,0)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,4
47		480	620	010	90	35,5	21,6	13,9	154,4	Ab.	0	4,2	0	0,5 f. t.	0	0	0,5	0,01	0,3	0	0,1	0,41	0,41
48		300	560	570	90	37,2	23,9	13,3	147,7	Ab.	+	7,2	0	1 t.	0	0	1,0	0,08	0,2	0,1	0,1	0,48	0,48
49		300	560	610	90	30,5	22,0	8,5	94,4	Ab.	0	4,0	0	0	0,5 f.	0	0,5	0	0,1	0,1	0	0,2	0,2
50		300	560	600	90	20,0	23,8	5,2	57,7	S/Ab.	0	3,4	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0,1	0,1
51		430	550	530	90	33,0	22,5	10,5	116,6	F.	0	5,1	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0,2	0,3	0,3
52		370	680	070	90	32,7	19,9	12,8	142,2	Ab.	0	10,4	0	0,5 f.	0,5 f.	0	1,0	0	0,2	0,2	0	0,4	0,4
53		400	020	620	90	32,5	20,7	11,8	131,1	Ab.	0	7,4	3	2	0	0,5 f.	5,5	10,7	0,1	0,1	0,2	11,1	11,1
54		450	600	620	90	34,0	21,0	13,0	144,4	F.	0	5,3	0	0	0,5 f.	0,5 f.	1,0	0	0,1	0,2	0,3	0,6	0,6

DISCUSSÃO

A) *A Atividade Estrogênica. A Ação Tumorigênica e o Problema da Autodefesa do Organismo* — O problema da relação entre a atividade estrogênica e a ação tumorigênica foi atacado em nossas experiências com o emprêgo de quantidades iniciais médias de estrogênios urinários que foram de 7 a 11 vezes maiores que aquelas de estrogênios ováricos. Os resultados das nossas experiências demonstram que o aumento da quantidade absorvida de estrogênio traz como consequência um aumento correspondente da sua ação tóxica e tumorigênica. Nas condições quantitativas das nossas experiências, os estrogênios urinários induziram, em alguns grupos, uma ação tumorigênica igual e em outros grupos, uma ação tumorigênica até maior que a daqueles com estrogênios ováricos.

Se diminuirmos a quantidade absorvida de estrogênio, devemos ter, como consequência, uma diminuição da sua ação tumorigênica. Os resultados das experiências de THIBAUT (1941) que usou quantidades de estrogênios urinários bem menores que as empregadas por nós, mostram que realmente é assim. Em quantidades iguais, os estrogênios urinários são menos tumorigênicos que os estrogênios ováricos, conforme se depreende dos resultados das nossas experiências, especialmente com a betadihidroequilenina e das pesquisas de THIBAUT (1941) com a equilenina. Um aumento ou uma diminuição da atividade estrogênica resultaria em uma modificação correspondente da ação tumorigênica.

A transformação que o organismo realiza de estrogênios ováricos em estrogênios urinários não seria uma simples inativação mas teria uma significação muito mais profunda segundo o conceito de LIPSCHÜTZ. A menor atividade estrogênica do hormônio dá em resultado uma menor ação tumorigênica conjuntiva que é a indicadora de uma ação tóxica. Dêsse modo, os resultados das nossas experiências constituem mais uma contribuição ao conceito de LIPSCHÜTZ de que o organismo, transformando orto-hormônios (estradiol) e para-hormônios (estrona), estrogênios ováricos em meta-hormônios (estriol, equilenina e dihidroequilenina), estrogênios urinários específicos, visaria não só obter produtos de metabolismo menos ativos, no sentido estrogênico, mas também produtos menos tóxicos e prejudiciais ao organismo e provavelmente, outrossim, substâncias de eliminação mais facil.

A existência de um paralelismo entre a atividade estrogênica e a ação tumorigênica é um fato que assume dêsse modo, uma importância extremamente significativa para a autodefesa do organismo.

B) *Sistemas de Avaliação do Efeito Tumoral Fibróide Induzido por Estrogênios* — Além do sistema de avaliação do efeito tumoral em

uso no Departamento de Medicina Experimental [LIPSCHÜTZ & VARGAS (1939), LIPSCHÜTZ, BELLOLIO, CHAUME & VARGAS (1940)], foi introduzido um outro sistema por sugestão do Prof. A. LIPSCHÜTZ, baseado na medição do volume dos tumores provocados pelo estrogênio, sendo por isso denominado de sistema tumoral volumétrico cujos detalhes estão descritos anteriormente.

No sistema tumoral antigo, a nota máxima é limitada a 12, no sistema volumétrico, a nota é proporcional ao volume dos tumores. Isso traz, como consequência, algumas diferenças entre os dois sistemas de avaliação, que se tornam mais visíveis nos grupos com estrogênio, onde há animais com grandes tumores (ver os quadros de 1 a 7, no apêndice).

Um estudo comparado dos valores fornecidos pelos dois sistemas de avaliação do efeito tumoral fibróide (ver os gráficos das figs. 16 e 17) permite destacar alguns novos pontos, muito interessantes que nos escapam, quando empregamos, somente o sistema original usado até agora por LIPSCHÜTZ e seus colaboradores.

Se pelo sistema de notas tumorais, os estrogênios urinários, excluindo a betadihidroequilenina, deram valores médios da tumorigênese que foram quase idênticos àqueles dos estrogênios ováricos, quando comparados com o estradiol, ou maiores, quando comparados com a estrona, pelo sistema de notas volumétricas, as enormes quantidades absorvidas de estrogênios urinários atingiram valores ainda mais significativos.

Este resultado é um novo apoio a favor do paralelismo entre a atividade estrogênica e a ação tumorigênica (ver o quadro n.º 1). Por outro lado, é interessantíssimo notar a pequena ação tumorigênica do isômero beta da dihidroequilenina que pelos dois sistemas de avaliação do efeito tumoral alcançou o menor grau de tumorigênese entre todos os estrogênios, aqui estudados. A diversidade de ação tumorigênica dos dois isômeros da dihidroequilenina atrai a atenção.

RESUMO

91 cobaias castradas foram implantadas com comprimidos de estrogênios ováricos, estradiol e estrona e de estrogênios urinários específicos, estriol, equilenina e os isômeros alfa e beta da dihidroequilenina, tendo sido autopsiadas 90 dias depois da implantação.

As experiências foram realizadas de tal forma que houve uma absorção de estrogênios urinários muito maior que a de estrogênios ováricos. Assim, obtivemos uma absorção total média diária de 97 (equilenina) a 136 (beta-dihidroequilenina) microgramas para os estrogênios urinários e de 12 (estrona) a 19 (estradiol) microgramas para os estrogênios ováricos.

Fizeram-se observações comparadas sobre o efeito tumoral fibróide e sobre a ação histerotrófica. O problema do paralelismo entre a atividade estrogênica e a ação tumorigênica foi abordado.

Na avaliação da tumorigênese, além do sistema original de notas tumorais foi introduzido um outro sistema de notas volumétricas.

Todos os estrogênios produziram tumores. A tumorigênese induzida pelas grandes quantidades de estrogênios urinários foi equivalente em alguns grupos e em outros foi até maior que a tumorigênese produzida pelas pequenas quantidades de estrogênios ováricos, conforme o sistema de avaliação do efeito tumoral e excluindo-se a betadihidroequilenina que teve um grau mínimo de tumorigênese.

Dêse modo, é evidente que pelo aumento de absorção pode-se conseguir uma ação tumorigênica dos estrogênios urinários igual e até maior que a dos estrogênios ováricos porque a quantidade absorvida do estrogênio repercute sobre a sua ação tumorigênica, apesar de haver diferenças tão grandes de atividade estrogênica entre os estrogênios urinários e os estrogênios ováricos.

Este fato adquire uma importância especial à luz do conceito de LIPSCHÜTZ de que o organismo, transformando orto- e para-hormônios (estradiol e estrona) em meta-hormônios (estriol, equilenina e dihidroequilenina), não só visaria obter substâncias menos ativas, no sentido estrogênico, mas também menos tóxicas e talvez de igual modo, produtos de eliminação mais fácil. Tal transformação seria assim, um mecanismo de autoproteção do organismo.

O isômero beta, apesar de ser menos tumorigênico que o isômero alfa da dihidroequilenina teve uma acentuada ação histerotrófica. Dessa forma, com uma dosagem apropriada se pode dissociar a ação histerotrófica do estrogênio da sua ação tumorigênica. E com isso abrem-se certas possibilidades terapêuticas de utilidade evidente.

SUMMARY

Small pellets of ovarian estrogens, estradiol and estrone, and big tablets of specific urinary estrogens, estriol, equilenin and the isomers alfa- and beta-dihydroequilenin, were implanted in 91 castrated guinea pigs. Necropsies were performed 90 days after implantation.

The experiments were made in such a way that the absorption of urinary estrogens was much greater than that of ovarian estrogens. Thus, we obtained a total daily average of 97 micrograms (equilenin) to 136 micrograms (beta-dihydroequilenin) for the urinary estrogens and from 12 (estrone) to 19 (estradiol) micrograms for the ovarian estrogens.

Comparative observations were made on both tumorigenesis and hystero-trophic action. The problem of parallelism between estrogenic activity and tumoral action was touched.

In the calculation of tumorigenesis, a new system of volumetric notes was introduced in addition to the original system of tumoral notes.

All the estrogens produced tumors. According to the system of evaluation, the fibromatogenic action of the large quantities of urinary estrogens was equivalent to, and in other cases even larger, than that produced by the small quantities of ovarian estrogens, excepting beta-dihydroequilenin, which showed a minimum grade of tumorigenesis.

Therefore, it is evident that by means of increased absorption, an equal or even higher fibromatogenic action of the urinary estrogens than of the ovarian

estrogens may be obtained, since the quantity of estrogen absorbed reflects on its tumoral action, in spite of the great difference in estrogenic activity between the urinary estrogens and the ovarian estrogens.

This fact acquires added importance as a result of the concept of LIPSCHÜTZ that the organism, in transforming ortho- and para-hormones (estradiol and estrone) into meta-hormones (estriol, equilenin and dihydroequilenin) not only endeavors to obtain less active substances in the estrogenic sense, but also less toxic substances which may be easier to eliminate. This transformation would thus represent a means of self-protection for the organism.

In spite of the fact that the isomer beta is less tumorigenic than the isomer alfa-dihydroequilenin, it showed accentuated hysterotrophic action. In this way, by means of appropriate dosages, the hysterotrophic action of estrogen may be dissociated from its tumorigenic action. Thus, certain therapeutic possibilities of self-evident utility become apparent.

BIBLIOGRAFIA

- DEANESLY, R., 1938, Further Experiments on the Administration of Hormones by Subcutaneous Implantation of Tablets. *Lancet*, 2:606-608.
- DOISY, E. A., 1942, The Estrogens. *Endocrinology*, 30(6):933-941.
- HARTMAN, C. G., 1940, The Effect of Testosterone on the Monkey Uterus and the Administration of Steroidal Hormones in the Form of Deanesly-Parkes Pellets. *Endocrinology*, 26:449-471.
- IGLESIAS, R., 1938, Tumores Experimentales Uterinos y Extragenitales provocados por el Benzoato de Estradiol. Tesis Univ. de Chile, Santiago. Public. Med. Exp. N.º 1.
- LACASSAGNE, A., 1939 Les Rapports entre les Hormones Sexuelles et la Formation du Cancer. *Ergebn. d. Vitamin u. Horm. Forsch.*, 2:259-296.
- LIPSCHÜTZ, A., 1936, El Complejo de las Hormonas Ováricas. *Actualidad Médica Peruana*, 2:160-175.
- LIPSCHÜTZ, A., 1942, Bases Endocrinas Experimentales de la Tumorigenesis Epitelial y Conjuntiva en la Esfera Genital Femenina. *Medicina*, Buenos Aires, 2(4):404-438.
- LIPSCHÜTZ, A., 1943, Endocrine Aspects of Antitumoral Autodefense. *Rev. Canad. Biol.* 2(1):92-104.
- LIPSCHÜTZ, A., BELLOLIO, P., CHAUME, J. & VARGAS JR., L., 1941 Comparative Conjunctive Tumorigenic Action of Three Different Esters of Estradiol. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 46:164-167.
- LIPSCHÜTZ, A. & IGLESIAS, R., 1938, Multiples Tumeurs Uterines et Extragénitales Provoquées par le Benzoate d'Estradiol. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 129:519-524, 9 figs.
- LIPSCHÜTZ, A., MURILLO, R., VARGAS, L. & KOREFF, O., 1939, Nouvelles Etudes sur l'Action Antitumorigène de l'Ovaire. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 131:208-211, 1 fig.
- LIPSCHÜTZ, A., THIBAUT, R. & VARGAS, L., 1942, The Fibromatogenic Action of Specific Urinary Estrogens (Meta-hormones) in the Guinea Pig. *Cancer Res.*, 2(1):45-51. 9 figs.
- LIPSCHÜTZ, A. & VARGAS, L., 1939, Experimental Tumorigenesis with subcutaneous Tablets of Oestradiol. *Lancet*, 1:1313-1318, 12 figs.
- LIPSCHÜTZ, A. & VARGAS, L., 1939, Étude "Quantitative" de la Tumorigenèse Conjunctive due a l'Hormone Folliculaire. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 131:27-31, 2 figs.
- LIPSCHÜTZ, A. & VARGAS, L., 1939, Action Protetrice de l'Ovaire contre la Tumorigenèse par le Benzoate d'Oestradiol. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 130:596-599.
- MARK, J. & BISKIND, G. R., 1940, Increased Duration of Insulin Action by the Use of Protamine Zinc in Pellet Form. *Endocrinology*, 26:444-448.
- MELLO, RAUL F., 1944, Comparative Fibromatogenic Action of Ovarian and Urinary Estrogens. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 55:149-151, 2 figs.
- MELLO, RAUL F. & FRANKE, C., 1944, The Comparative Duration of Estrus Induced by Ovarian and Urinary Estrogens. *Rev. Brasil. Biol.*, 4(3):333-338, 2 figs.
- MURILLO, F., 1940, La Acción Protectora del Ovario en la Tumorigenesis Conjuntiva Experimental y el Papel de la Progesterona en esta Accion. Tesis Universidad del Chile, Santiago. Public. Med. Exp. N.º 4.
- THIBAUT, R., 1941, La Acción Tumorigena Conjuntiva de las Orto- Para- y Meta-hormonas Folliculares. Tesis Universidad de Chile, Santiago. Public. Med. Exp. N.º 7. 28 p., 5 figs.

NEOTROPICAL MIRIDAE: XIV. A NEW GENUS AND A NEW SPECIES OF PHYLINAE FROM DUTCH GUIANA (Hemiptera) ¹

JOSÉ C. M. CARVALHO

and

PETR WYGODZINSKY

Escola Superior de Agricultura,
Viçosa, Minas Gerais

Instituto de Ecologia e Experimentação
Agrícola, Rio de Janeiro

(With 7 text-figures)

This paper contains the description of an unusual genus of *Miridae* kindly sent for study by Dr. D. C. GEIJSKES, Paramaribo, Dutch Guiana, to whom the authors wish to express their acknowledgements.

Anomalocornis n. g.

Body elongate, shining, densely and shortly pubescent, small. Head with front protruding between the eyes, sloping forward, vertex smooth: eyes large, coarsely granulated, touching the anterior margin of pronotum: pubescence scattered and erect: eyes, when seen from the sides (fig. 2) compressed, more slender at the inferior portion where they touch the gula: tylus, buccula and lora small but well marked: rostrum reaching the fifth abdominal sternite, first segment reaching middle of prosternal xifus and second touching apices of anterior coxae.

Antennae (figs. 2 and 3) inserted on antero-internal margin of eyes, at level of basal line of tylus: first segment short and thick, second very characteristic due to its shape reminding the letter S, third and fourth very slender, subequal. Pronotum trapezoidal, smooth, densely pubescent, anterior hairs erect beyond the calli, the ones at disc adpressed, posterior margin slightly sinuate, calli small, obsolete. Mesoscutum largely visible; scutellum tumid, apex strongly pointed.

Hemelytra densely pubescent, embolium widened towards apex, cuneus small, fracture superficial. Membrane with two areolae reaching about middle of cuneus. Legs very long, anterior coxae stronger than others, posterior femora thicker than median and anterior ones, thickly pubescent, posterior tibiae very long, provided with spines and rows of very small, black points; tarsi long, first segment half the length of second, this slightly longer than third, claws

(fig. 4) with a short apical process, without basal tooth, areola small, united to basal third of claw.

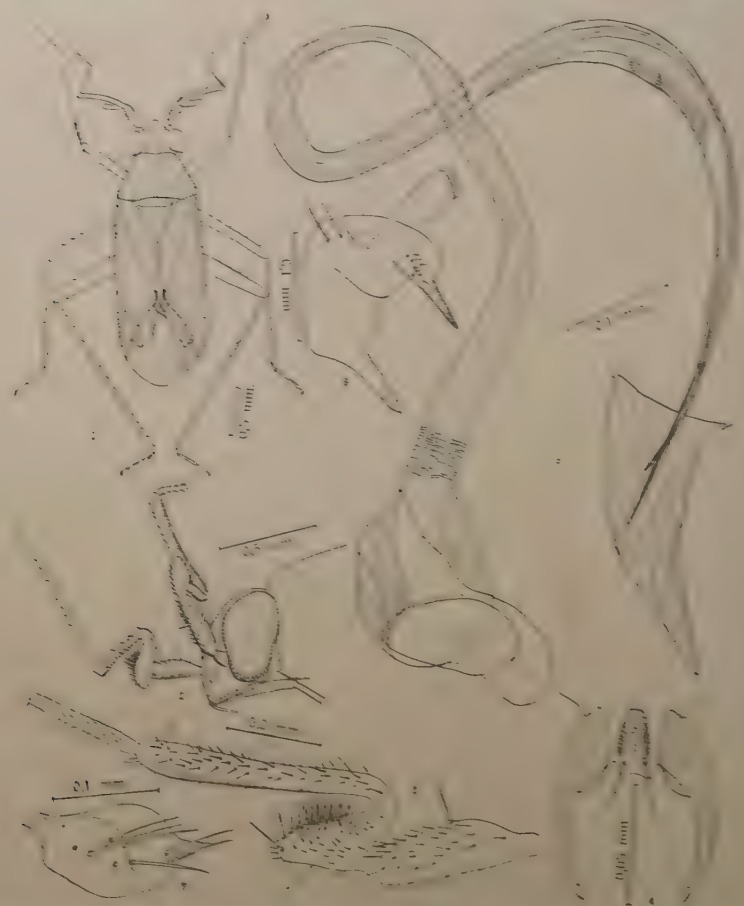
Geographical distribution: Neotropical region, Dutch Guiana.

Genotype: *Anomalocornis geijskesi* n. sp.

Genus belonging to subfamily *Phyllinae*, well differentiated from all others by characteristic shape of antennae, length of rostrum and legs.

Anomalocornis geijskesi n. sp.

Well characterised by the peculiar shape of second antennal segment, color of body and male genitalia. General aspect as in fig. 1.



Anomalocornis geijskesi n. sp. — Fig. 1. Male general aspect; fig. 2. Head with antennae, lateral view; fig. 3. Right antenna, first, second, and base of third articles; fig. 4. Phallus; fig. 5. Left harpagone; fig. 6. Right harpagone.

Color: yellowish-testaceous; eyes black; apical half of second antennal segment, apices of first, second and third fuscous; hemelytra yellowish-translucent, slender vittae on external margin of clavus and apex of cuneus testaceous to sulphurescent; membrane hyaline; posterior femora, apices of first and second pairs yellowish-orange. Pubescence yellowish or golden.

Male: length 2.8, width 0.9 mm. Head: length 0.3, width 0.6, vertex 0.28 mm. Antennae (figs. 2 and 3): first segment length 0.3, width 0.1 mm., thinner on base and apex; second: on basal portion 0.16, on median 0.24, and on apical portion 0.52 mm., very characteristic, reminding the letter S when seen from side; median portion thick (fig. 3) at base, with a tuft of hollow setae above on internal margin, these setae reaching the inferior side of apical portion where they contact the base of a field of very short and delicate bristles: larger setae can be seen on the superior and lateral margins of apical portion; length of third segment 0.7, of fourth 0.5 mm. Pronotum: length 0.5, width at base 0.8 mm. Rostrum: length 1.4 mm., reaching fifth abdominal sternite.

Male genitalia: phallus (fig. 5) simple, with a thicker basal portion including the phallosoma and ductus ejaculatorius, the latter followed by a long and slender portion (spicula) which ends sidewise with an external, triangular piece of the last ventral segment. On the apical third of the spicula exists a group of small teeth or rugosities. Left harpagone reminding an Y (fig. 6), excavated internally, the branches ending sharply, pointed, with a few setae scattered on surface. Right harpagone (fig. 7), clavate, pointed apically, with a few long setae on middle and apex.

Host plant: unknown

Holotype: 1 male, Kabelstation, Suriname, Geijskes leg, 27-10-1938; provisionally in the Carvalho collection of Miridae. The male genitalia, right antenna and third tarsus of left leg are mounted in balsam, and preserved with the type.

The name of this *species* is being given in honour of Dr. D. C. GEIJSKES, Paramaribo, Suriname, who discovered it.

RESUMO

Os autores descrevem *Anomalocornis geijskesi* n. g., n. sp. (Hemiptera, Miridae), da Guiana Holandesa. O tipo acha-se provisoriamente na coleção Carvalho.

BLASTOMICOSE¹

OSCAR VERSIANI

Faculdade de Medicina, Belo Horizonte

(Com 32 figuras no texto)

Preocupando-nos, há alguns anos, com o problema das granulomatoses blastomicéticas, vimos, sobre o assunto, trazer agora o nosso depoimento, vasado em uma casuística relativamente pouco numerosa, farta, porém, de ensinamentos que julgamos suficientes para robustecer os nossos pontos de vista.

Pôsto que imprópria, porque por demais genérica, usamos a denominação — *blastomicose* — para designar o quadro clínico que, no nosso meio, se tem chamado doença de Lutz, granulomatose blastomicroide neotropical, granuloma paracoccidióidico, doença de Lutz-Splendore-Almeida.

ALMEIDA (1), fazendo o estudo clínico do granuloma paracoccidióidico, afirmou as tendências linfático-tegumentares da doença, dizendo ser excepcional o acometimento pulmonar e ósseo, aquele com uma incidência tão somente de 15%, enquanto o segundo tão raro, que não mereceu descrição no citado manual.

ALMEIDA & LACAZ (2), mais recentemente, mantiveram a opinião de que a localização pulmonar é rara, citando percentagem de comprovações necroscópicas não superior a 20% do total dos casos.

FONSECA (5) é igualmente de opinião que a forma linfático-tegumentar é mais encontrada no Rio de Janeiro, “embora aí ocorra sempre acompanhada de lesões ósseas ou viscerais diversas”.

RABELO (7) chamou a “atenção para o fato de que qualquer forma da blastomicose brasileira pode cedo complicar-se de lesões pulmonares” e cita casos necropsiados por NIÑO e FIALHO nos quais as lesões pulmonares existiam em mais de 90%.

¹ Recebido para publicação a 16 de novembro de 1944.

Trabalho apresentado à Sociedade Brasileira de Dermatologia, Seção de Minas Gerais.

RAMOS E SILVA (6) assinalou casos de localização exclusivamente cutânea, nos quais se revelaram elementos parasitários gemulantes nos tecidos, concluindo, entretanto, tratar-se de blastomicose brasileira.

Vejamos agora as nossas observações :

1.^a Obs. — J. M. M. : 16 anos, solteiro, pardo, admitido na I Cl. médica em 20-1-937 (fig. 1). Forma linfático-cutânea, sem lesões na mucosa da boca. Não foram pesquisadas radiologicamente lesões dos ossos e pulmões. Fungos numerosíssimos no pús dos abscessos. Falecido em 17-2-937, não sendo possível a necropsia.



Fig. 1 — Doente J. M. M. : Forma linfático-cutânea.

2.^a Obs. — T. A. : Internado na Clinica dermatológica (Prof. A. Aleixo), em 23-2-939. Lavrador, com 28 anos, proveniente de São Pedro dos Ferros, Minas. Falecido em 28-3-939 e necropsiado (Prof. S. Americano Freire) apresentava lesões blastomicéticas, com presença de fungos nos lábios, amígdalas, pele e gânglios do pescoço e das axilas. Acometimentos viscerais foram assinalados no baço, fígado e pulmões. As lesões destes últimos órgãos, além de congestão e edema, assumiram o aspecto de múltiplos abscessos cavitários, com paredes mais ou menos espessadas, distribuídas nos lóbulos superiores e inferiores (fig. 2).

3.^a Obs. — Arg. A. : Admitido na I Cl. médica a 7-4-941. Brasileiro, lavrador, com 20 anos de idade, natural de Antônio Dias, Minas. 11 meses antes, iniciara

sua doença com febre, dores torácicas localizadas principalmente na região escapular esquerda, tosse e expectoração hemoptóica. 15 dias mais tarde, surgiram-lhe dores na espádua, joelho e tornozelo esquerdos. Posteriormente, apareceu-lhe na região mamária direita, uma tumefação que aumentou progressivamente, sendo pouco dolorosa. A esta seguiram-se outras no couro cabeludo. Por fim, infartaram-se os gânglios cervicais, submentonianos, inguinais, cruais, axilares e supra-epitrocleano esquerdo. Agravaram-se progressivamente as manifestações pulmonares (tosse e expectoração hemoptóica), acentuando-se o emagrecimento e a anemia.

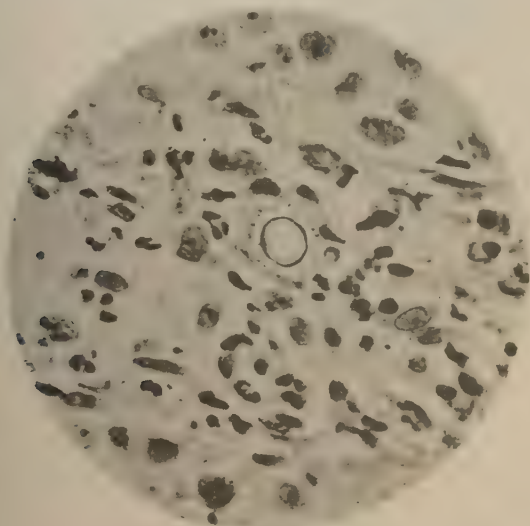


Fig. 2 — Corte histológico do pulmão: fungo com a forma em "roda de leme".

Exame — Peso 33,150 k.; temperatura 37^o,8; abscesso na região mamária direita, com a dimensão aproximada de uma meia laranja; vários abscessos menores no couro cabeludo. Mínima a reação inflamatória em torno desses abscessos, sendo íntegra a pele que os recobria, o que nos deu a impressão de que se tenham desenvolvido no tecido celular subcutâneo. **Boca** — Em ótimas condições, sendo os dentes alvos, perfeitos, bem implantados. Língua, amígdalas, úvula e cavum nada apresentaram digno de nota. **Aparelho respiratório** — Diminuição da sonoridade e do murmúrio vesicular nas regiões infra-escapular e infra-mamária esquerdas. Estertores subcrepitantes de finas e médias bolhas em todo o hemitorax esquerdo e na região inter-escápulo-vertebral direita. O exame radiológico revelou sombras, com aspecto exsudativo, na parte média e inferior do pulmão esquerdo: hilos muito acentuados (fig. 3). Nessa mesma radiografia observou-se dilatação fusiforme do terço interno da clavícula esquerda, cuja trama mostrou-se rarefeita e cortical irregular. **Aparelho circulatório** — 128 pulsações por minuto; pressões arteriais, sistólica 125 e diastólica 65. **Exames laboratoriais**: Sangue; Hb. 42% (Sahli); hemátias, 3.092.000 por mm³; leucócitos, 11.300 por mm³. Fórmula leucocitária: (300 elementos) neutrófilos 77,7%; eosinófilos 2,0%; mastleucócitos 0,3%; linfócitos 15,5% e monócitos 4,5%. Oligocromia, anisocitose e pecilocitose. Nas uri-

nas, apenas digno de nota a presença de pseudo-albumina, indicação e escatol. Pesquisa de parasitos nas fezes, negativa. Escarro hemoptoico, sendo negativa a pesquisa de *M. tuberculosis* e positiva a de fungos que se apresentam sob a

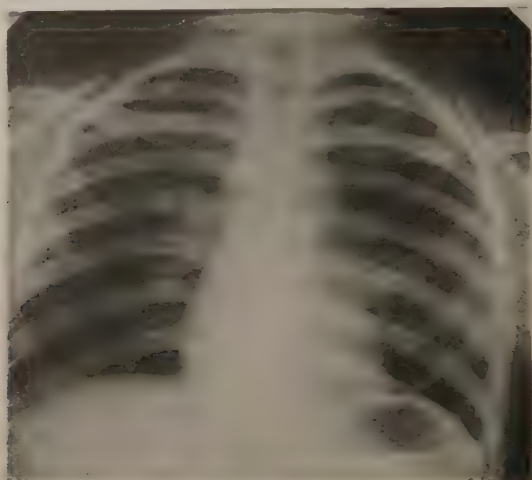


Fig. 3 — Radiografia do tórax do doente Arg. A.

forma arredondada, com membrana de duplo contorno, com núcleo único ou subdividido (fig. 4).

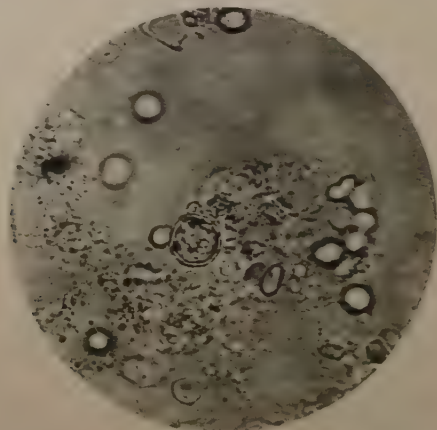


Fig. 4 — Escarro. Vêem-se hemátias e o fungo. Micrografia a fresco.

O pus do abscesso da região mamária, espesso, cheio de grumos, amarelado-esverdeado, revelou, ao exame a fresco e após coloração, fungos idênticos aos encontrados no escarro. Além das formas isoladas com núcleos indivisos, observaram-se elementos nos quais a divisão nuclear se mostrava muito adiantada.

dispondo-se as pequenas porções cromáticas, em alguns, imediatamente abaixo da membrana, em forma de coroa (fig. 5). Viam-se ainda, nas preparações,

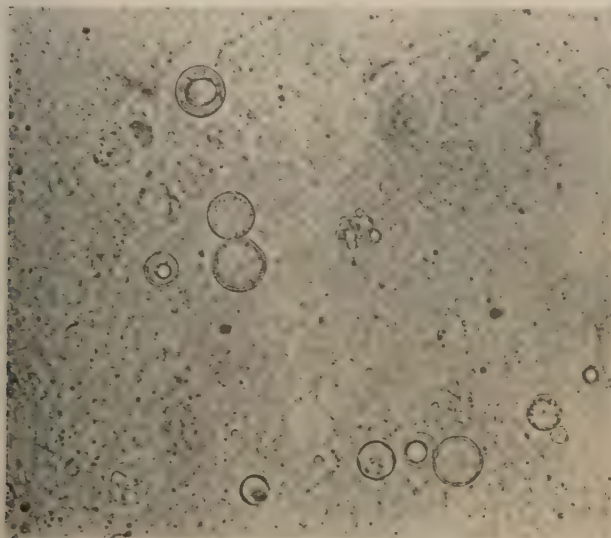


Fig. 5 — Pús. Micrografia a fresco.

elementos piriformes, ligados uns a outros, aos pares, assim como formas cate-nuladas, com maior número de elementos (figs. idênticas às de n.º 19 e 20. Não raro, encontravam-se formas com vacúolos e glóbulos de gordura e bem assim membranas rotas e vazias (figs. 6 e 7). A biópsia de gânglio supra-epitrocleano veio demonstrar a existência de processo granulomatoso, sendo frequentes os gigantócitos contendo fungos, alguns dos quais com a nítida coroa de cripto-spórios, dando a figura de "roda de leme" (figs. 8 e 9).

Dêste caso, com localização pulmonar (forma exsudativa), óssea, ganglionar e subcutânea, damos descrição mais pormenorizada, por ser precisamente o que pudemos seguir por mais tempo e por ter fornecido o maior número de ilustrações dêste trabalho.

Evolução — Submetido a tratamento pelas sulfas (4 g. em média por dia), as melhoras não se fizeram esperar. Os abscessos curaram-se sem se romperem, a expectoração declinou rapidamente, os gânglios reduziram de volume, o estado geral melhorou consideravelmente. Em maio de 1941, o exame hematológico deu o seguinte resultado: Hb. 72%; hemátias, 4.380.000 por mm³; leucócitos, 6.600 por mm³; fórmula leucocitária: neutrófilos 74,0%; eosinófilos 3,0%; mastleucócitos 0,0%; linfócitos 16,0%; monócitos 7,0%. Em 20-7-1941, raríssimos fungos no escarro, os quais não eram mais encontrados em 31-4-1942. O peso, que atingira 47 quilos em novembro de 1941, manteve-se nesse nível até abril de 1942. Durante êsse lapso de tempo, passou sem febre, a qual, no início, oscilava entre 37º e 39º,4.

O exame radiológico do tórax revelou, então, quase completo desapareci-mento das sombras de especto exsudativo do pulmão esquerdo, persistindo os

sinais de lesões da clavícula esquerda, além dos quais se encontravam novos focos na clavícula direita e costelas (fig. 10), inexistentes no primeiro exame.

As dores no joelho acentuaram-se, surgindo uma tumefação com derrame articular, o qual foi puncionado em 11-4-942, obtendo-se líquido com aspecto



Fig. 6 — Pús. Micrografia a fresco.



Fig. 7 — Pús. Micrografia a fresco.

de caldo de laranja no qual não se encontraram fungos. Em maio de 1942, a temperatura elevou-se novamente até 39°, mantendo-se daí por diante, com grandes oscilações até o êxito letal, sem que se conseguissem resultados satis-

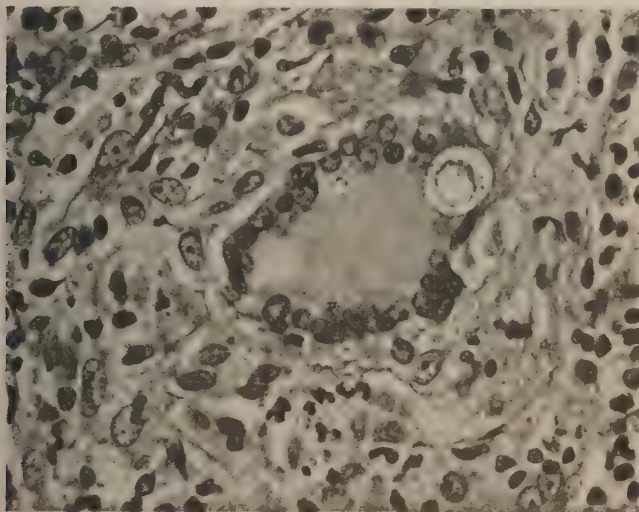


Fig. 8 — Granuloma blastomicético em gânglio. Gigantócito com fungo em forma de "roda de leme". Col. hematoxilina-eosina. Biópsia.

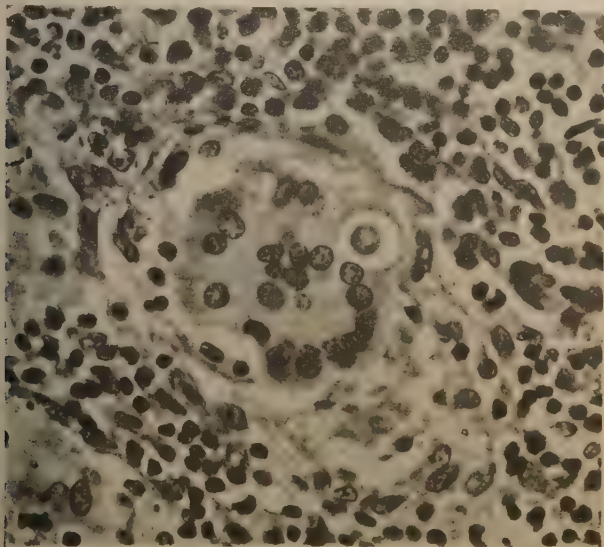


Fig. 9 — Granuloma blastomicético em gânglio. Gigantócito contendo fungo. Col. hematoxilina-eosina. Biópsia.

fatórios com a terapêutica pelas sulfas, posto que empregadas sob formas, doses e vias múltiplas. O exame radiológico do joelho (fig. 11) mostrou imagens la-

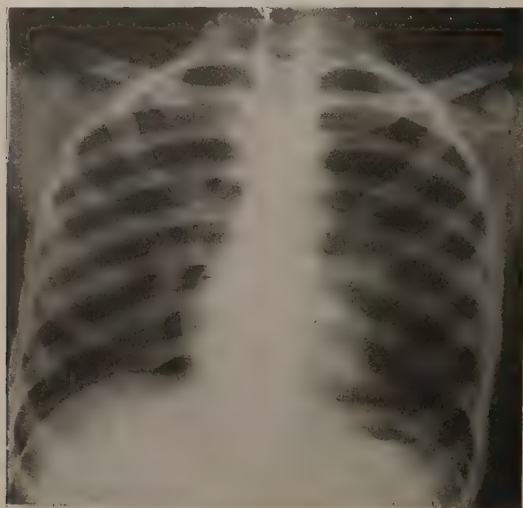


Fig. 10 — Segunda radiografia do tórax do doente Arg. A.

cunares da extremidade do fêmur, rótula e extremidade superior da tíbia. Com a agravação do estado geral, entumeceram-se os gânglios, surgindo ulcerações

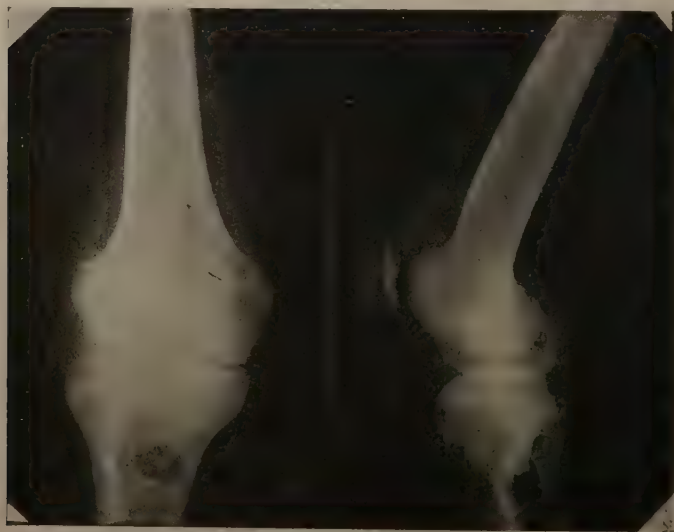


Fig. 11 — Radiografia do joelho do doente Arg. A.

mormente no pescoço (fig. 12). A tosse e a expetoração, entretanto, não mais se renovaram.



Fig. 12 — Doente Arg. A. Ulcerações no pescoço.

Necrópsia — Falecido em 1-5-943, foi necropsiado pelo nosso assistente, Dr. Lopes Faria, o qual, em resumo, notou o seguinte : Cadaver pesando 31,500 quilos. Nas regiões submentoniana, laterais do pescoço, supra-clavicular direita, supra-espinhosa direita e axilar esquerda, lesões ulcerosas, algumas das quais se continuavam até os planos profundos através trajetos fistulosos. Abscessos não fistulizados na região axilar direita. Gânglios inguinais e crurais aumentados de volume. Tumefação do joelho direito e regiões vizinhas. Ao ser aberta a articulação, escorreu grande quantidade de líquido espesso, côr de chocolate, que era contido dentro da própria articulação e numa loja na extremidade inferior da coxa. Lesões destrutivas extensas foram observadas na extremidade superior da tíbia. Lesões idênticas foram observadas nas clavículas e nas 4.^{as} costelas direita e esquerda. Nas gengivas, língua, amígdalas, cavum e laringe não foram encontradas lesões blastomicéticas. Além das lesões com presença

de fungos verificadas nos ossos citados. úlceras blastomicéticas existiam no grosso intestino.



Fig. 13 — Obs. 3. Micrografia de cultura do fungo.

Quanto aos pulmões, notaram-se lesões miliares cáseo-productivas, sendo ainda verificada pneumonia crônica fibrosa à direita e áreas fibrosadas de tamanho médio, no pulmão esquerdo. A pleura direita, com forte espessamento fibroso, mostrava formações granulomatosas.

Exame histológico dos pulmões (Prof. L. Bogliolo) — “Inflamação crônica produtiva granulomatosa, com formações :

a) do tipo tuberculoso, com células gigantes tipo Langhans, produção muito abundante de células epitelióides, vasta caseificação ;

b) do tipo tuberculóide, com formação de nódulos quase exclusivamente epitelióides ;

c) do tipo exsudativo simples, sendo o exsudato constituído prevalentemente por linfócitos, células plasmáticas, granulócitos neutrófilos.

Os nódulos tuberculóides (formação tipo b) são frequentemente isolados e circundados por um anel fibroso, ao passo que as formações com estrutura tuberculosa (tipo a) seguidamente são confluentes e não apresentam tendência à fibrose.

Não foram encontrados bacilos ácido-álcool resistentes.

No pulmão direito, nos nódulos com estrutura tuberculóide, existem raros esporos de fungo”.

4.^a Obs. — T. M. (Clínica particular), brasileira, de cor branca, com 22 anos, residente em B. Horizonte. Há cerca de 9 anos, iniciou-se a doença com localização na comissura labial e ligeiro infartamento ganglionar. Submetida a inúmeros tratamentos (iodetos, tripaflavina, sais de ouro), progrediu lentamente a doença, acentuando-se o entumescimento dos gânglios cervicais, que se

fistulizaram. Iniciada a época das sulfas, passou a usá-las, tendo períodos de melhora e piora. Durante um destes, houve acometimento das gengivas, forçando a extração dos dentes. O uso contínuo das sulfas de todas as procedên-

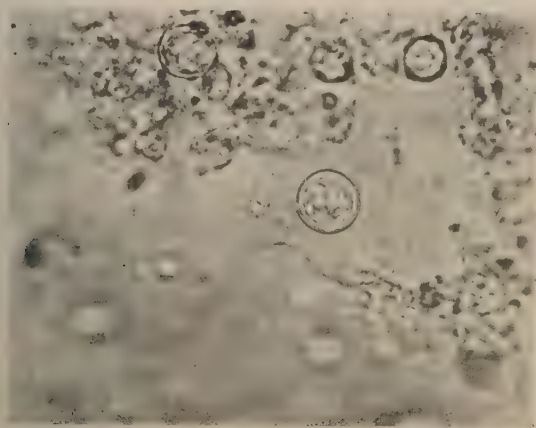


Fig. 14 — Obs. 3. Micrografia de cultura do fungo.

cias e denominações, sempre bem tolerado, tem impedido um progresso rápido da doença, não se observando, até o presente, lesões ósseas ou pulmonares.

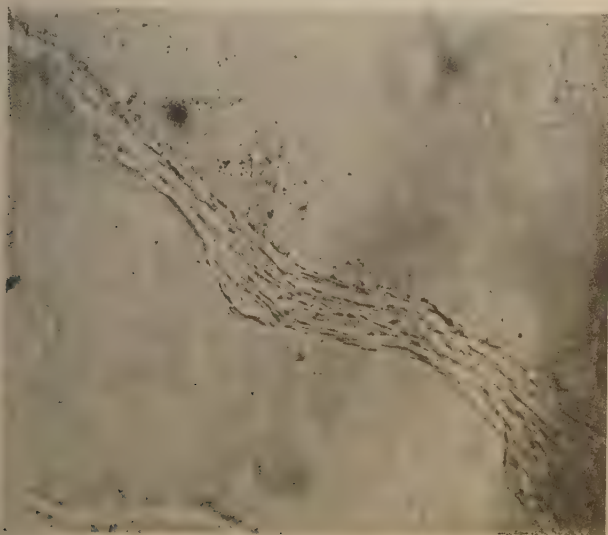


Fig. 15 -- Obs. 3. Micrografia de cultura de fungo. Aspecto coremóide.

5.^a Obs. — A. F. L., brasileiro, com 42 anos, pardo, ingressou na Clínica dermatológica em 27-4-942. Apresentava lesões ulcerosas no lábio, mucosas da

boca, inclusive gengivas (fig. 16). A radiografia mostrou lesões miliars de pequenos nódulos em ambos os campos pulmonares. Submetido a tratamento pelas sulfas, obteve melhora, pelo que solicitou alta, não sendo revisto.

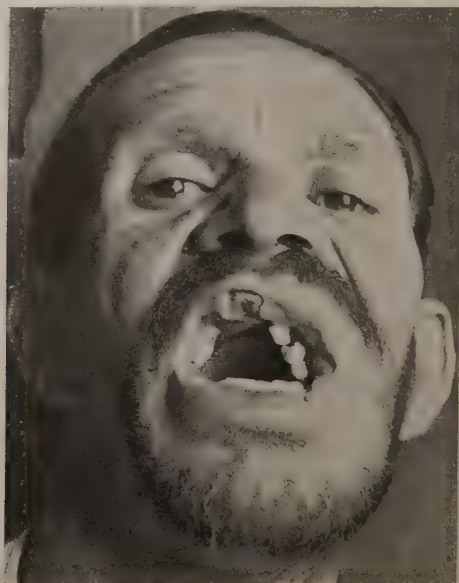


Fig. 16 — Doente A. F. L.: Lesão inicial no lábio com propagação para as gengivas e abóbada palatina. Lesões miliars em ambos os pulmões.

6.^a Obs. — H. F., brasileiro, com 45 anos, de côr branca, alfaiate, natural de Manhuassú, Minas. Admitido na I Clínica médica a 5-5-942. Cerca de um ano antes, sofrera uma furunculose (?). Logo em seguida à cura da *soi-disant* furunculose, tornou-se rouco, surgindo-lhe dores na garganta e dificuldade na deglutição de alimentos. Informa ainda que, em virtude de lesões gengivais que ele rotulou de *piorréia*, foi forçado a mandar extrair os dentes. Contemporaneamente, apareceu-lhe uma tumefação na metade direita do pescoço a qual se ulcerou, formando-se uma fístula. Ao exame, mostrou-se muito emagrecido, com gânglios infartados no pescoço e região inguinal, sendo os últimos discretamente. Fístula na metade direita do pescoço (fig. 17). Lesões ulcerosas, de bordos irregulares, nas amígdalas, úvula e faringe, estendendo-se à laringe. A radiografia dos pulmões revelou fibrose no terço superior do pulmão esquerdo (fig. 18). Escarro: Pesquisa de bacilos de Koch negativa, sendo positiva a de fungos, os quais eram igualmente presentes no pus colhido na fístula citada (figs. 19 e 20). O paciente raramente apresentava temperatura acima de 37°. Faleceu em consequência de insuficiência circulatória, não sendo permitida a necrópsia.

7.^a Obs. — A. H. P., brasileiro, branco, com 14 anos de idade, natural de Viçosa, Minas, internado na I Clínica Cirúrgica em 17-9-943. Forma linfático-cutânea, sem lesões da boca (fig. 21), associada a linfadenite tuberculosa. Fo-

ram comprovados os aspectos histológicos de granulomatose de uma e outra natureza, sendo encontrados, no pus, não só o fungo, como o bacilo de Koch.

O exame radiológico dos pulmões não demonstrou acometimento desses órgãos. Tratado pelas sulfas e helioterapia, obteve alta clinicamente curado, continuando até agora em boas condições.



Fig. 17 — Doente H. F. : Fístula do pescoço.

8.^a Obs. — H. S. F., brasileiro, moreno, com 34 anos, viuvo, natural de Minas. Iniciou-se a doença por uma pequena ulceração na comissura labial esquerda, estendendo-se às gengivas um ano depois o que motivou a extração dos dentes. Propagou-se a lesão para a bochecha que se tornou muito infiltrada, assim como a região sub-mentoniana. Há 2 anos foi atingida a língua no seu bordo esquerdo e face inferior. Em novembro de 1941, começou a usar sulfas que bastante o melhoraram. A interrupção da medicação coincide sempre com a agravação do mal. Exames radiográficos não revelaram lesões ósseas ou pulmonares.

Além das observações acima assinaladas, estamos autorizados a citar mais as seguintes, pertencentes a arquivos de ilustres colegas, aos quais agradecemos :

Do Dr. J. Aleixo : Obs. I) — A. L. : Necropsiado em 23-6-943. Lesões cutâneas (face, pescoço e axila esquerda), da boca, amígdalas, gânglios cervicais e inguinais, do esterno com fratura do manúbrio, das articulações costo-condrais, com fraturas das costelas (4.^a até 9.^a à direita, e 5.^a até 8.^a à esquerda). Pneumonia lobar direita.

Obs. II) — Z. A. R., 23 anos. Diagnóstico apoiado em biópsia. Necropsiado em 14-1-944. Lesões da boca (lábio inferior, gengiva, língua, abóbada palatina

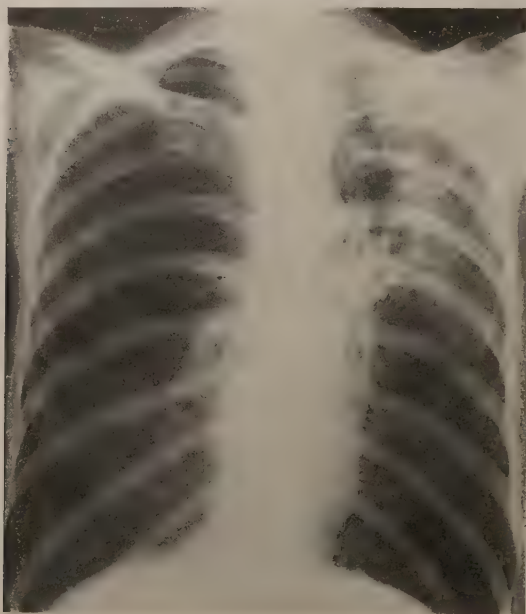


Fig. 18 — Doente H. F. : Fibrose pulmonar.

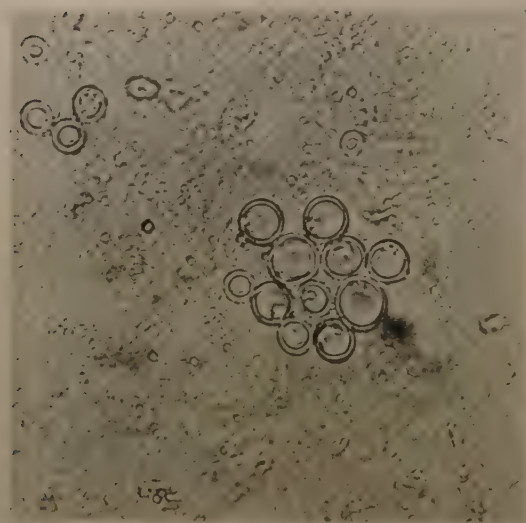


Fig. 19 — Pús da fistula do pescoço. Micrografia a fresco. Aspectos do fungo.

e úvula), faringe e laringe (destruição de grande parte da epiglote, lesões das cordas vocais e ventrículos de Morgagni) e dos gânglios cervicais. Lesões milia-



Fig. 20 — Pús da fístula do pescoço. Micrografia a fresco. Vêem-se formas catenuladas do fungo.



Fig. 21 — Doente A. H. P.: Lesões blastomycéticas linfático-cutâneas associadas a linfadenite tuberculosa.

res de ambos os pulmões. Aderências pleurais. Colite ulcerativa (Nota: Não se realizou, infelizmente, o exame histológico em virtude de se não terem conservado os blocos, em razão de um acidente no laboratório).

Obs. III — A. I. (fig. 22). Necropsiado em 28-2-944. Lesões da boca. Lesões acino-nodulares com pequenas cavernas nos ápices. Pericardite adesiva. Colite ulcerativa. Lesões da epiglote. Exame histológico dos pulmões (Prof. L. Bogliolo): "Inflamação crônica ora difusa ora do tipo granulomatoso. Alguns granulomas são circunscritos, outros confluentes. Os elementos que formam os "grânulos" são prevalentemente células plasmáticas; encontram-se também células do tipo linfocitário, numerosos elementos histiocitários, frequentemente degenerados, raros granulócitos neutrófilos, células gigantes plurinu-

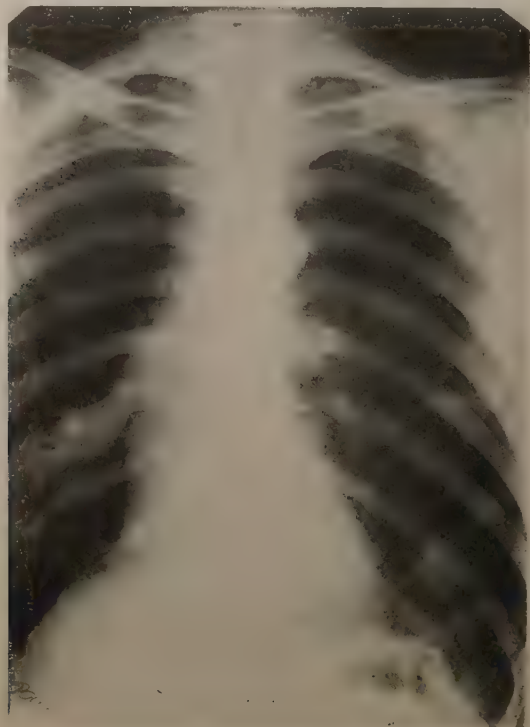


Fig. 22 — Doente A. I.: Lesões nodulares em ambos os pulmões.

cleadas. Em local algum, estes elementos arranjam-se de modo a dar ao granuloma o tipo tuberculoso, tuberculóide ou outros parecidos. Certos grânulos são coliquados no centro. Em outros, há no centro uma zona de tecido cicatricial fibroso, pouco nucleado, não vascularizado, antigo".

Há também cavérnulas, em cuja parede se encontram tanto o infiltrado difuso quanto os granulomas. Não foi encontrado o *M. tuberculosis* nem, com os processos rotineiros de coloração, o *P. brasiliensis*.

Epiglote — Inflamação crônica ulcerosa, com as características da flogose pulmonar. Grande número de esporos e de formas vegetativas do *P. brasiliensis*, inclusive a forma em “roda de leme”.

Obs. IV) — J. J. G.: Lesões ulceradas nos lábios, língua e assoalho da boca. Gânglios palpáveis aumentados de volume. A biópsia revelou fungos levediformes em lesão granulomatosa do lábio. O primeiro exame radiológico realizado em 20-3-944, mostrou campos pulmonares com aspecto normal (fig. 23).



Fig. 23 — Doente J. J. G.: Campos pleuro-pulmonares normais em 20-3-944.

Tratado pelas sulfas, não as tolerou satisfatoriamente, agravando-se-lhe o estado geral. Novo exame radiológico, em 30-8-944, demonstrou sombras míliares em ambos os campos pulmonares (fig. 24).

Falecido em 11-9-944, foi necropsiado pelo Prof. L. Bogliolo, verificando-se o seguinte: “*Diagnóstico anatomo-patológico*: Processo ulcerativo, altamente destrutivo, dos lábios, da língua, das gengivas, de todo o assoalho da boca, da úvula, da epiglote; ulcerações pequenas da parede posterior da faringe. Linfadenite supurativa dos gânglios submaxilares, cervicais e inguinais, bilateralmente; de intensidade menor, nas regiões axilares.

Disseminação miliar, possivelmente recente, em ambos os pulmões; ligeira adenite aguda nos hilos pulmonares.

Grave hipotrofia parda do coração: hipotrofia do fígado; menos acentuada, do baço.

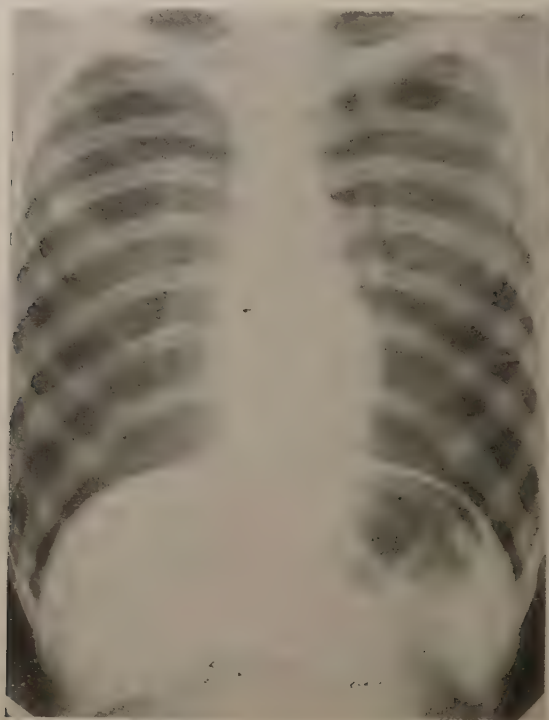


Fig. 24 — Doente J. I. G.: Lesões miliares em ambos os pulmões em 30-8-944.

Oligoemia. Estado caquético grave. Hidrocéfalo externo grave. Pequena cicatriz do ápice pulmonar direito. Bálano-postite ulcerosa. *Exame microscópico*: Lábios, língua, assoalho da boca, epiglote: inflamação crônica do tipo granulomatoso, sem fenômenos coliquativos. Enorme número de formas de levedo, brotantes, raríssimas formas de endosporulação. *Gânglios linfáticos*: vastos fenômenos necrobióticos, coliquativos, com escassa infiltração purulenta. Enorme quantidade de parasitos, apresentando as formas já citadas (figs. 25 e 26). *Pulmões*: grânulos miliares com escassos fenômenos necrobióticos no centro, sem estrutura histológica específica. Enorme número de fungos, reproduzindo-se como foi dito (figs. 27 e 28). *Rins*: pequenas estrias coliquadas na medular, tendo a forma da chamada nefrite purulenta por eliminação, e contendo enorme número de parasitos, com o aspecto já descrito".

Obs. V, VI, VII e VIII) — R. M. C., S. M. P., H. M. e A. M. L. Todos apresentaram lesões linfático-tugumentares. Dêstes, R. M. C. e S. M. P. tinham lesões pulmonares, com ausência de *M. tuberculosis* (fig. 29), enquanto A. M. L. trazia lesões ósseas múltiplas (fig. 30).

Do Dr. Alysso de Abreu: T. D. L., com lesões da boca e invasão de ambos os pulmões com aspecto fibro-exsudativo (fig. 31). Este paciente submetido ao

tratamento pelas sulfas, melhorou consideravelmente (fig. 32), obtendo alta. Alguns meses depois veio a falecer, sem ter sido revisto.

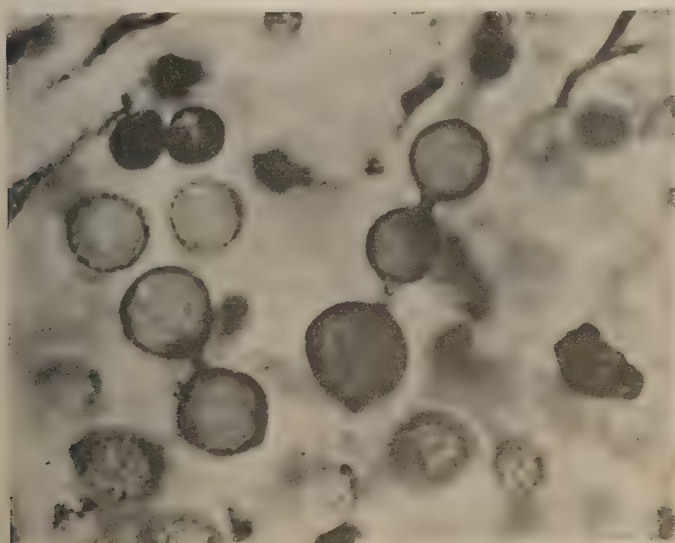


Fig. 25 — Corte histológico de gânglio linfático. Fungos brotantes vistos com grande aumento (Impregnação pelo método de Perdrau).

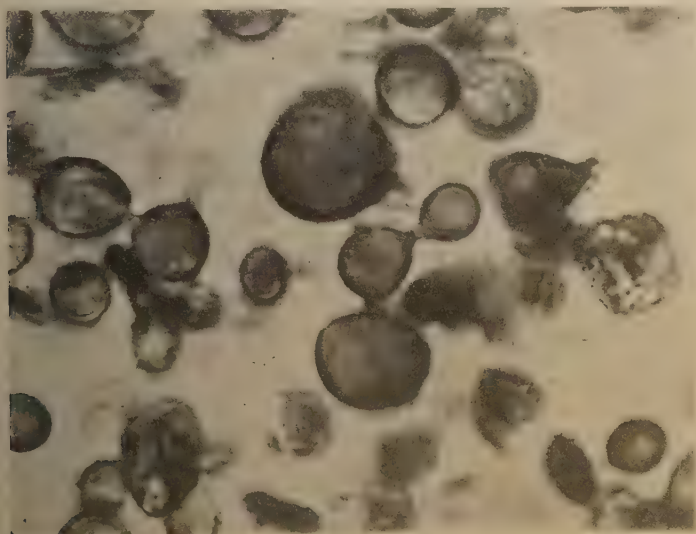


Fig. 26 — Corte histológico de gânglio linfático. Fungos brotantes vistos com grande aumento (Impregnação pelo método de Perdrau).

Do Prof. O. Cabral Mota: R. F. A. — Forma pulmonar primitiva, com presença do fungo no escarro. Esse paciente teve posteriormente um acometimento cerebral com hemiplegia, para cuja etiologia se admitiu a possibilidade da localização nervosa blastomicética a qual não pôde ser comprovada por se tratar de cliente de clínica particular, sendo impossível a necrópsia.

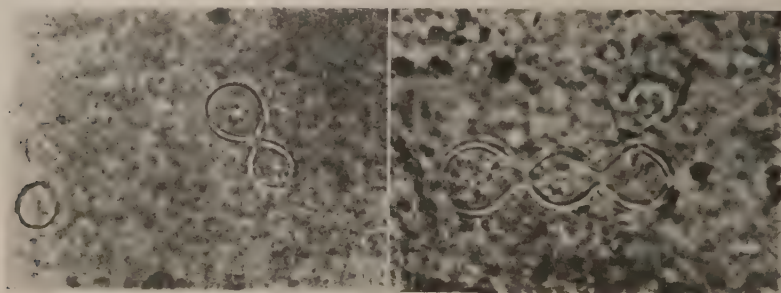


Fig. 27 — Fungo brotante (forma gemulada) em grânulo miliar do pulmão. Fig. 28 — Fungo brotante (forma catenulada) em grânulo miliar do pulmão.

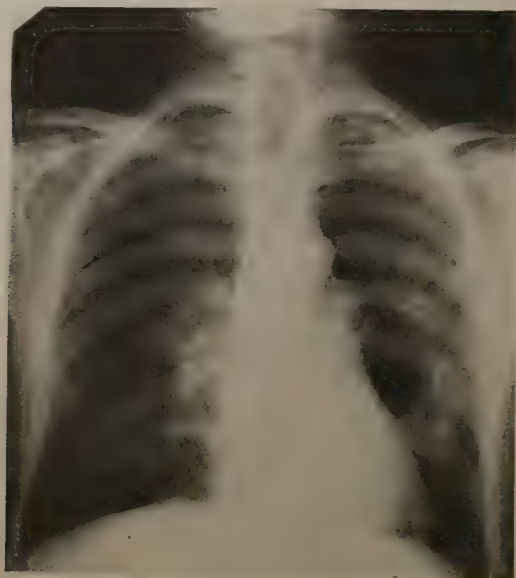


Fig. 29 — Doente R. M. C.: Lesões pulmonares com aspecto fibro-exsudativo

Todas as micrografias que ilustram êsse trabalho foram executadas no Depart. de Micrografia da Faculdade de Med. da U. M. G., sob a direção da técnica, Sra. M. C. Fernandes a quem consignamos os nossos agradecimentos.

COMENTARIO

Pôsto que exames mais detalhados dos esqueletos e mesmo dos pulmões pudessem ainda alterar as cifras que se colhem na nossa casuística, sentimo-nos, todavia, autorizados a afirmar, desde já, com os dados de que dispomos, que a blastomicose assume os mais variados aspectos, incluindo os exclusivamente cutâneos (6), os de localização mucosa com reação ganglionar relativamente discreta, os que trazem extensa e grave acometimento linfático-tegumentar, os de invasão sistêmica com múltipla distribuição visceral, os que se acompanham de comprometimento ósseo e até os que se iniciam pelas manifestações pulmonares.



Fig. 30 — Doente A. M. L. : Lesões ósseas múltiplas.

Nesta comunicação com a qual visamos tão somente focalizar êsses distintos quadros clínicos, não nos deteremos na apreciação detalhada do agente etiológico. Para apoio dos diagnósticos firmados, apresentamos apenas uma parte da documentação de que já dispomos, assinando formas de reprodução do parasito, em que se vêem o brotamento múltiplo, com formação de criptospórios, os aspectos de gemulação, com elementos ainda unidos aos pares ou em cadeias, quer em preparados de pus a fresco, quer em cortes histológicos, em pleno tecido granulomatoso. Formas de endoesporulação, temo-las visto, até agora, com

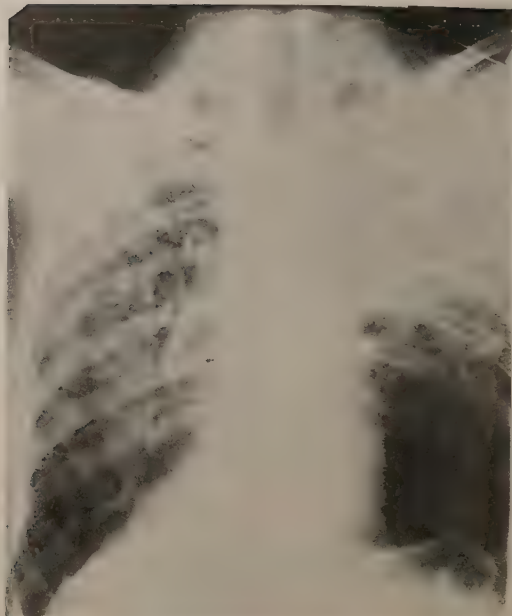


Fig. 31 — Doente T. D. L. : Lesões pulmonares com aspecto fibro-exsudativo

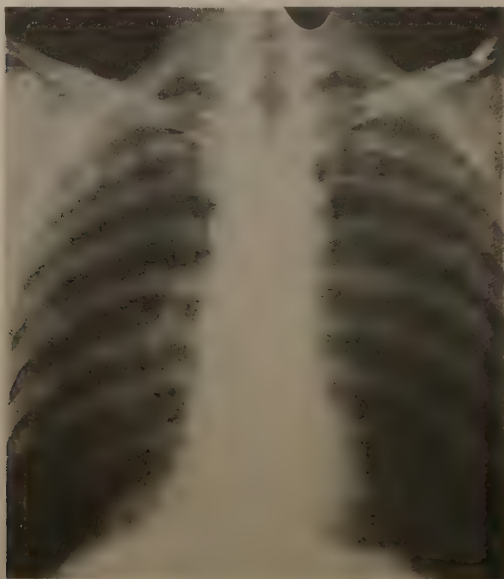


Fig. 32 — Doente T. D. L. : Aspecto das lesões pulmonares após tratamento pelas sulfas.

dimensões e organização interna que se não podem comparar com as que se assinalam no *Coccidioides immitis* (3).

Na opinião de AROEIRA NEVES (comunicação pessoal) que, há vários anos vem estudando o assunto, os parasitos responsáveis pela blastomicose sul-americana, pela blastomicose norte-americana e pelo granuloma coccidióidico não apresentam características suficientes para que se considerem pertencentes a gêneros distintos, devendo-se agrupar *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Coccidioides immitis* sob esta última única rubrica.

CONANT & HOWELL (4), por sua vez, consideram idênticos os gêneros *Paracoccidioides* e *Blastomyces*, mantendo, todavia, as duas espécies, *B. dermatitidis* e *B. brasiliensis*, enquanto deixam à parte o gênero *Coccidioides*.

Diante da controvérsia desta questão, estamos presentemente interessados em formar nossa opinião sobre o agente etiológico da blastomicose que ocorre entre nós, pois, como o mostramos, o vemos ora com os caracteres próprios de *B. dermatitidis*, ora com formas de multiplicação que justificaram a criação do gênero *Paracoccidioides* e ainda com aspectos de endoesporulação que um pouco o aproximam de *C. immitis*.

Se se trata de incidência, no nosso meio, das formas de blastomicose que ora se chamam sul-americana e norte-americana ou se ambas devam ser consideradas idênticas sob o ponto de vista etiológico, são hipóteses para cuja solução prometemos contribuição futura.

Por enquanto, desejamos apenas registrar que casos de granulomatoses blastomícéticas por nós estudados se apresentam com frequentes generalizações sistêmicas perfeitamente comparáveis aos que se observam na Norte-América.

RESUMO

Após referir-se à preferência que dispensa ao termo blastomicose para designar a doença que, no Brasil, tem sido chamada doença de Lutz, granulomatose blastomícóide neotropical, granuloma paracoccidióidico ou doença de Lutz-Splendore-Almeida, o A. relata 18 casos ocorridos em Minas Gerais, e mostra que aí a doença assume os aspectos mais variados, com acometimentos tegumentares, linfáticos, ósseos e viscerais, incluindo os de início pulmonar. Frequentes são as generalizações sistêmicas perfeitamente comparáveis às que se observam nas granulomatoses blastomícéticas que se observam na Norte-América.

SUMMARY

The Author refers to his preference for the name of blastomycosis to designate the disease which in Brazil has been called Lutz' disease, neotropical blastomycoid granulomatosis, paracoccidioidic granuloma or Lutz-Splendore-Almeida's disease. He then reports 18 cases which have occurred in Minas Gerais and shows that in Minas the disease assumes the most varied aspects

attacking the skin, lymphatics, bones and viscera, including manifestations of pulmonary origin. Very frequently there is general infection exactly similar to what is observed in cases of blastomycetic granulomatosis met with in the U. S. A.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, F. P., 1939, *Micologia Médica*, 710 pp., 285 figs., Ed. Cia. Melhoramentos, S. Paulo (cf. p. 22).
2. ALMEIDA, F. P. & LACAZ, C. S., 1942, *Micoses bronco-pulmonares*, 98 pp., 34 figs., Ed. Cia. Melhoramentos, S. Paulo (cf. p. 56).
3. BENHAM, R. W., 1934, The fungi of blastomycosis and coccidioidal granuloma, *Arch. Dermat. Syph.*, 30:385-400, fig. 12.
4. CONANT, N. F. & HOWELL Jr., A., 1942, Similarity of fungi causing South American blastomycosis (paracoccidioidal granuloma) and North American blastomycosis (Gilchrist's disease), *J. Invest. Dermat.*, 5:353-370.
5. FONSECA, O., 1943, *Parasitologia Médica*, 737 pp., 8 pls. col., 101 figs., 1 mapa, Ed. Guanabara, Rio (cf. pp. 259-261).
6. RAMOS E SILVA, J., 1942, Sobre a forma puramente cutânea de início da blastomicose brasileira. *O Hospital, Rio de Janeiro*, 22:737-741.
7. RORHBACH, R. (RABELO, F. E.), 1943, *Compêndio de Dermatologia*, 595 pp., 12 pls. col., 24 figs., Trad. Thomsen, G. G., Ed. Científica, Rio (cf pp. 229-231).

HIPOSENSIBILIDADE DO ÚTERO ISOLADO DE COBAIA CARENTE DE VITAMINA B₁ À PITUITRINA E POTENCIAÇÃO DA AÇÃO DESTES OXITÓCICOS PELO CLORIDRATO DE TIAMINA (VITAMINA B₁)¹

J. PELLEGRINO e JOAQUIM PINHO

Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, Minas Gerais

(Com 6 figuras no texto)

Em publicações anteriores, HASHIMOTO (1), DUFAIT (2) e PELLEGRINO (3), mostraram que o cloridrato de tiamina potencia a ação oxitócica da pituitrina sobre o útero isolado de cobáia.

No presente trabalho procuramos verificar esta ação em cobaias mantidas com dieta carente de vitamina B₁ e, nestas condições, estudamos a sensibilidade do útero à pituitrina.

UENO (4), em 1933, verificou que em ratas alimentadas com arroz descorticado, as contrações espontâneas do útero isolado diminuíam a partir da 3.^a semana de dieta, podendo mesmo desaparecer depois da 12.^a semana. Observou também menor sensibilidade do útero à pilocarpina e à pituitrina. O que se refere a este oxitócico foi por nós confirmado em experiências não publicadas.

Pelo fato do útero de rata, especialmente quando em avitaminose B₁, ser de difícil manejo (atrofia), utilizamos em nossas pesquisas o útero isolado de cobáia por ser este o animal de escolha para tais estudos.

MATERIAL E MÉTODO

Câmara para músculo liso — Utilizamos-nos de um aparelho do tipo PITTENGER (5) trabalhando nas seguintes condições experimentais: cuba, onde é colocado o útero, aferida para 50 cc.; temperatura mantida automaticamente a 37,5 C.; borbulhamento de oxigênio no banho (solução de Tyrode) de modo que se possam contar o número de bolhas.

¹ Recebido para publicação a 25 de novembro de 1944.

Trabalho do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Belo Horizonte, dirigido pelo Prof. S. Americano Freire, apresentado à Sociedade de Biologia de Minas Gerais no dia 20 de julho de 1944.

Solução de Tyrode (6) —

Cloreto de sódio	8,0
Cloreto de potássio	0,2
Cloreto de cálcio	0,1
Bicarbonato de sódio	1,0
Glicose	1,0
Água destilada	1.000 cc.

Não julgamos necessário usar o cloreto de magnésio como sensibilizador.

Pituitrina e cloridrato de tiamina — Utilizamos em nossas experiências a pituitrina "Parke Davis" e o cloridrato de tiamina "Mallinckrodt". As soluções eram feitas em líquido de Tyrode pouco antes de serem utilizadas.

Cobaías — 40 cobaías sadias, de pêso variando entre 260 e 490 g., afastadas de macho uma semana antes de entrarem em dieta, foram divididas em dois lotes: um de 30 (hipovitaminose B₁) e outro de 10 (testemunho).

Sacrificamos as cobaías com um ou mais golpes na nuca. Aberto o abdômen por uma incisão mediana e afastado o intestino, pinçávamos a vagina, seccionando-a. Dissecávamos então os dois cornos do útero colocando-os, em seguida, numa placa de Petri com líquido de Tyrode à temperatura ambiente. Enquanto fazíamos experiências com um dos cornos, o outro era colocado imediatamente na geladeira em líquido de Tyrode para ser utilizado algumas horas depois.

Dieta — Após algumas tentativas estabelecemos a seguinte dieta:

Aveia	55
Farelo de trigo	15
Alfafa moída	15
Levedo de cerveja	5
Caseína	5
Carbonato de cálcio	1
Cloreto de sódio	1
Óleo de fígado de bacalhau	3

Esta dieta, como a de DUTCHER (7), para cobaías fornece cerca de 150 calorias para 100 g. A aveia, o farelo de trigo e a alfafa foram autoclavados a 125° C. durante 3 horas para destruir a vitamina B₁, conservando a maior parte de riboflavina (7). Levedo de cerveja autoclavado nas mesmas condições foi fornecido ao 1.º lote (hipovitaminose) enquanto o lote testemunho recebeu levedo não autoclavado. Extraiu-se a vitamina B₁ da caseína pelo processo indicado por HAWK & BERGEIM (7a). A dieta foi adicionado ácido ascórbico "Squibb" em comprimidos, depois de triturados — 400 U.I. para 100 g. de alimento. Fez-se estoque da dieta exceto o óleo de fígado de bacalhau que foi acrescentado diariamente ao se fornecer alimento às cobaías. O lote em hipovitaminose sofreu uma perda de pêso (24%) e uma mortalidade maior (50%) do que o lote testemunho (13% e 20% respectivamente).

QUADRO I

LOTE EM HIPOVITAMINOSE B1					LOTE TESTEMUNHO							
NÚMERO	PESO INICIAL	PESO NO DIA DA EXPERIÊNCIA	DIAS DE EXPERIÊNCIA	DOSE SUB-MÁXIMA DE PUTIFERINA 1%	POTENCIAÇÃO		PESO INICIAL	PESO NO DIA DA EXPERIÊNCIA	DIAS DE EXPERIÊNCIA	DOSE SUB-MÁXIMA DE PUTIFERINA 1%	POTENCIAÇÃO	
					Dose Cl. Tim. 2%	Tempo					Dose Cl. Tim. 2%	Tempo
1.	293	238	15	0.8	0.25	10'	300	255	24	0.045	0.5	5'
2.	425	315	18	1.0	0.25	15'	400	370	37	0.05	0.5	5'
3.	370	340	21	1.0	0.25	15'	375	280	30	0.08	1.0	houve
4.	445	340	21	1.4	0.5	30'	365	300	35	0.08	1.0	5'
5.	355	310	26	0.25	0.25	15'	360	260	30 dias experiência	0.3	—	—
6.	407	310	26	0.25	0.25	15'	385	310	27	0.3	—	—
7.	407	310	26	0.25	0.25	15'	377	420	24	0.08	—	—
8.	290	280	20	0.1	0.5	4'	455	420	24	0.08	0.5	10'
9.	295	280	20	0.1	0.5	4'	430	425	28	0.08	0.5	10'
10.	282	230	20	0.1	0.5	4'	350	350	27 dias experiência	0.2	0.5	10'
11.	275	240	30	—	0.5	houve	375	325	26	0.2	0.5	10'
12.	305	250	32	0.3	0.5	houve	375	325	26	0.2	0.5	10'
13.	300	250	32	—	0.5	houve	375	325	26	0.2	0.5	10'
14.	330	255	34	0.4	0.5	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
15.	325	250	32	0.4	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
16.	325	250	32	0.4	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
17.	300	250	32	0.4	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
18.	385	280	29 dias experiência	0.8	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
19.	440	300	31 dias experiência	0.8	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
20.	300	285	30 dias experiência	1.0	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
21.	385	285	24	1.0	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
22.	453	340	28	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
23.	390	254	31	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
24.	415	254	31	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
25.	380	254	18 dias experiência	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
26.	478	254	22 dias experiência	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
27.	345	254	11 dias experiência	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
28.	275	254	11 dias experiência	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
29.	325	254	22 dias experiência	0.5	0.5	8'	375	325	26	0.2	0.5	10'
30.	440	335	25	1.0	—	—	375	325	26	0.2	0.5	10'
MÉDIA.....	364	276	25	0.665	0.38	12'	385	335	29	0.114	0.6	7'

QUADRO II

MÉDIA	LOTE EM HIPOVITAMINOSE B ₁	LOTE TESTEMUNHO
Perda de peso.....	24%	13%
Mortalidade.....	50%	20%
Dias de experiência.....	25	29
Dose sub-máxima-cc. de pituitrina a 1%.....	0.665	0.114

Foi feito o controle biológico da dieta fornecendo-se a dois lotes de 3 ratos de 30 dias de idade a mesma ração utilizada para as cobaia. No início da experiência, os ratos alimentados com dieta carente de vitamina B₁ pesavam 37 g. em média e os testemunhos 42 g. 50 dias depois, estes pesavam 74 g., e aqueles 49 g. Além do menor aumento de peso do lote carente, que foi devido à deficiência em tiamina (os outros componentes do complexo B estavam presentes), observamos após um mês de dieta, movimento em ponteiro de relógio, sinal de hipovitaminose B₁. No decorrer da experiência, não se verificaram outros sintomas carenciais, indicando que, apesar de haver deficiência de vitamina B₁, esta não foi absoluta, pois não se observou a marcha característica e fatal da avitaminose B₁. Com DUTRA DE OLIVEIRA (8) atribuímos a uma destruição incompleta da tiamina quando autoclavada a 125° C. durante 3 horas.

EXPERIÊNCIAS E RESULTADOS

1. *Sensibilidade do útero isolado de cobaia em hipovitaminose B₁ e testemunhas à pituitrina* — Como termo de medida da sensibilidade do útero à pituitrina, fixamos um tipo padrão de contração (fig. 1) que corresponde à dose sub-máxima do oxitócico empregado, sendo constantes o comprimento do útero, o contrapeso e o braço da alavanca inscritora.

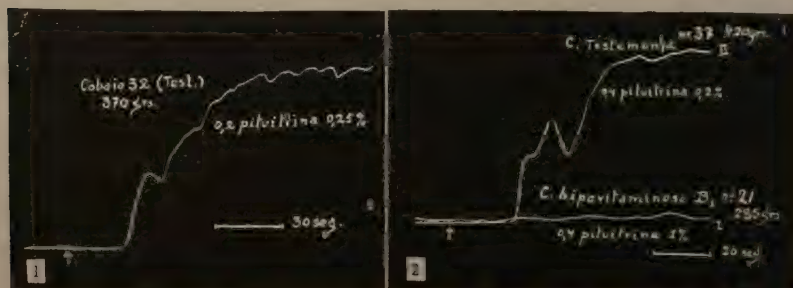


Fig. 1 — Cobaia 32. Peso 370 g. Testemunha. 0.2 cc. de pituitrina a 0.25% (Dose sub-máxima padrão). Fig. 2 — I: Cobaia 21. Peso 285 g. Hipovitaminose B₁. 0.4 cc. de pituitrina a 1%. II: Cobaia 37. Peso: 420 g. 0.4 cc. de pituitrina a 0.2%. A cobaia 37 (testemunha) foi dada uma dose 5 vezes mais fraca do que à cobaia 21 (hipovitaminose B₁).

Depois do relaxamento completo do útero acrescentamos ao líquido de banho (Tyrode) doses crescentes de pituitrina até se conseguir o tipo de contração desejado. A cuba era lavada cuidadosamente após o ensaio de cada dose. Em caso de se não ter conseguido o tipo padrão de contração, a dose sub-máxima era calculada levando-se em conta os traçados obtidos com o mesmo útero em resposta às doses de pituitrina empregadas.

A dose sub-máxima média, expressa em cc. de solução de pituitrina a 1%, foi de 0,114 para o lote de cobaias testemunhas e de 0,665 para as cobaias em hipovitaminose B₁ (fig. 2).

2. *Potenciação da ação oxitócica da pituitrina pelo cloridrato de tiamina* — Nesta série de experiências colocávamos no líquido de banho pequena dose de pituitrina afim de obtermos contrações apenas registráveis. Após lavagem da cuba e relaxamento do útero acrescentávamos ao líquido de banho 0,25 a 0,5 cc. de uma solução a 2% de cloridrato de tiamina (corresponde na cuba a uma concentração de $1-2 \cdot 10^{-4}$) a qual ficava em contacto com o útero por um tempo variavel (5-30 minutos). Durante o mesmo, mantínhamos constantes as condições experimentais (temperatura e oxigenação). Em seguida fazíamos retroceder o cilindro enfumado e, sobre o traçado anterior obtínhamos outro, empregando a mesma dose de pituitrina (figs. 3 e 4).

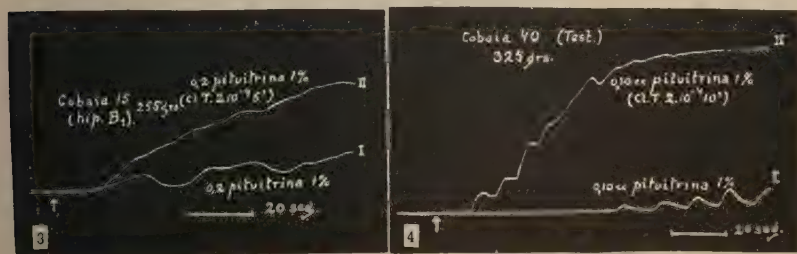


Fig. 3 — Cobaia 15. Hipovitaminose B₁. Peso 255 g. I: 0.2 cc. de pituitrina a 1%. II: mesma dose depois de deixar em contacto com o útero 0.5 cc. de cloridrato de tiamina a 2% durante 5 minutos. Fig. 4 — Cobaia 40. Testemunha. Peso 325 g. I: 0.1 cc. de pituitrina a 1%. II: mesma dose depois de deixar em contacto com o útero 0.5 cc. de cloridrato de tiamina a 2% durante 10 minutos.

De 17 ensaios, 6 realizados com cobaias testemunhas e 11 com cobaias carenciadas, somente em um caso (cobaia testemunha n. 33) no qual empregamos 0,5 cc. de cloridrato de tiamina a 2% durante 5 minutos não observamos potenciação. Na cobaia testemunha n.º 34, não se constatou potenciação com a dose e tempo de ação acima referidos (fig. 5). Duplicando-se a dose houve nítida potenciação (fig. 6).

Com a cobaia testemunha n.º 33 não ensaiamos dose maior de cloridrato de tiamina.

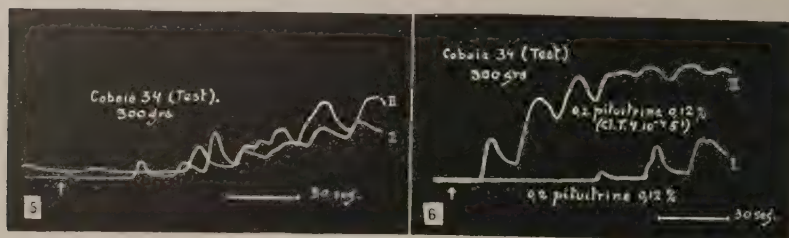


Fig. 5 — Cobaia 34. Testemunha. Pêso 300 g. I: 0,2 cc. de pituitrina a 0,12%. II: mesma dose de pituitrina depois de deixar em contacto com o útero 0,5 cc. de cloridrato de tiamina a 2% durante 5 minutos. Fig. 6 — Cobaia 34. Testemunha. Pêso 300 g. I: 0,2 cc. de pituitrina a 0,12%. II: mesma dose de pituitrina depois de deixar em contacto com o útero 0,5 cc. de cloridrato de tiamina a 4% durante 5 minutos.

CONCLUSÕES

1. O útero isolado de cobaia em hipovitaminose B₁ torna-se menos sensível à pituitrina.
2. A dose oxitócica sub-máxima média de pituitrina a 1% é de 0,665 cc. para as cobaias em hipovitaminose B₁ e de 0,114 cc. para as cobaias testemunhas.
3. O cloridrato de tiamina em concentração de $1-2 \cdot 10^{-4}$ em contacto com o útero isolado, por um tempo médio de 10 minutos, potencia a ação oxitócica da pituitrina, tanto nas cobaias em hipovitaminose B₁ como nas cobaias testemunhas.

Agradecemos aos colegas de laboratório Manoel Borrotchin e Marcello P. C. Pirfo por sua valiosa colaboração.

RESUMO

Em continuação a trabalho anterior, os Autores estudam a sensibilidade do útero isolado de cobaia carente de vitamina B₁ à pituitrina e à potenciação da ação deste oxitócico pelo cloridrato de tiamina. A 30 cobaias sadias, pesando de 260 a 490 g., afastadas de macho com uma semana de antecedência, foi fornecida uma dieta carente em vitamina B₁, estabelecida pelos Autores. 10 cobaias receberam a mesma dieta contendo vitamina B₁ (testemunhas). Os ensaios com útero isolado foram feitos numa média de 27 dias após o início da administração da dieta, nas seguintes condições: câmara para músculo liso do tipo Pittenger com cuba de 50 cc.; líquido de banho, Tyrode; temperatura 37,5° C.; oxigenação constante.

Concluíram que o útero isolado das cobaias em hipovitaminose B₁ é menos sensível à pituitrina que o das testemunhas. A dose oxitócica sub-máxima média de pituitrina a 1% é de 0,665 cc. para as cobaias em hipovitaminose B₁ e de 0,114 cc. para as cobaias testemunhas. Verificaram também que o clori-

drato de tiamina em concentração de $1-2.10^{-1}$ em contacto com o útero isolado por um tempo médio de 10 minutos, potencia a ação oxitócica da pituitrina, tanto nas cobaias em hipovitaminose B, como nas testemunhas.

SUMMARY

Continuing their previous researches, the Authors studied the sensibility to pituitrin of the isolated uterus of a guinea-pig suffering from lack of vitamin B₁; they also examined the reinforcement of the action of this oxytotoxic agent by thiamine chloride. Thirty healthy female guinea-pigs weighing from 260 to 490 grammes were separated from the male for a week and then given a diet lacking in vitamin B₁ established by the Authors. Ten guinea-pigs, used as controls, were given the same diet containing vitamin B₁. The tests on the isolated uterus were made 27 days, on an average, after the beginning of the diet and the conditions were the following: Pittenger-type chamber for unstriated muscle with a thorough capacity of 50 cc.; bathliquid — Tyrode; temperature 37,5° C.; oxygenation constant.

The Authors concluded that the isolated uterus of guinea-pigs with B₁ hypovitaminosis is less sensitive to pituitrin than that of the controls. The sub-maximum average oxytotoxic dose of 1% pituitrin was 0.665 cc. for the guinea-pigs with B₁ hypovitaminosis and 0.114 cc. for the controls. It was also found that thiamine chloride at a concentration of $1-2.10^{-1}$ in contact with the isolated uterus for an average period of 10 minutes reinforced the oxytotoxic action of pituitrin both as regards the guinea-pigs with B₁ hypovitaminosis and also as regards the controls.

BIBLIOGRAFIA

1. HASHIMOTO, H., 1937, Experimental study on the effect of vitamin B on female genitals: experiments I to VIII. *Jap. J. Obst. & Gynec.* 20:484-514 (Citado por José Dutra de Oliveira, 1943. *Fisiopatologia do complexo B*. Edição Laborterápica, São Paulo, 497 pp.).
2. DUFAIT, R., 1941, Influences de l'aneurine et de l'acetylaneurine sur l'action de différentes substances pharmacologiques sur l'utérus et l'intestin. *Arch. Int. Pharmacodyn. Théor.*, 66(3):274-292 (Citado no *Biol. Abst.*, 1942, 16:883).
3. PELLEGRINO, J., 1944, Potenciação da ação oxitócica da pituitrina sobre o útero isolado de cobaia pelo cloridrato de tiamina (vitamina B₁). *Rev. Brasil. Biol.*, 4(3):281-287.
4. UENO, J., 1933, Experimental study of the effects of vitamin B on female genital organs. *Jap. J. Obst. & Gynec.* 16(6):551-561 (Citado no *Biol. Abst.*, 1936, 10:71).
5. PITTENGER, P. S., 1928, Citado por Munch, James C., 1931, *Bioassays*, 958 pp., Baillière, Tindall and Cox, London.
6. SOLLMANN, T. H. & HANZLICH, P. J., 1939, *Fundamental of Experimental Pharmacology*, 307 pp., J. W. Stacey, Inc. San Francisco.
7. HAWK, P. B. & BERGEIM, O., 1937, *Practical Physiological Chemistry*, 933 pp., P. Blakiston's Son & Co. Inc., Philadelphia.
- 7a. HAWK, P. B. & BERGEIM, O., 1942, *Practical Physiological Chemistry*, 968 pp., P. Blakiston's Son & Co. Inc., Philadelphia.
8. OLIVEIRA, JOSÉ DUTRA DE, Comunicação pessoal.

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DOS “ENTOTROPHI” E “THYSANURA” DE PORTUGAL.

II. Família “Machilidae” (Thysanura) ¹

PETR WYGODZINSKY

Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícola, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 33 figuras no texto)

Praemachilinae Carpenter, 1916

Dilta Strand, 1911

A taxonomia dêste gênero é bastante complicada, e somente com muito mais material do que dispomos agora, será possível uma classificação definitiva das diversas formas já conhecidas e descritas. Limitamo-nos à enumeração e descrição do material colecionado em Portugal e à apresentação de uma chave provisória para a determinação rápida dos machos de *Dilta*. Extensivas considerações sinonímicas terão que ficar para mais tarde. Em nosso primeiro ensaio sobre o gênero (WYGODZINSKY, 1941), quando discutimos as espécies até então conhecidas, cometemos a imprudência de colocar *D. thornleyi* (Womersley) na sinonímia de *D. littoralis* (Womersley), sem ter visto o tipo da primeira espécie. Hoje nos parece muito provável a validade de *thornleyi*, que redescrevemos abaixo, baseado sobre material de Portugal. Duvidamos também a validade de *D. saxicola* (Womersley); agora redescrevemos também esta espécie, considerando-a como boa.

A seguinte chave facilitará a determinação de machos do gênero :

1. Palpo labial sem cerdas especializadas : apêndices da cabeça e pernas muito fortes e compridos *insulicola* Wygod.
- Palpo labial com cerdas especializadas ; apêndices da cabeça e pernas curtos 2
2. Parte apical do bordo anterior do 2.º articulo do palpo labial com um grupo de cerca de 12 cerdas espiniformes compridas e bem pigmentadas (fig. 4) 3
- O mencionado grupo ausente 4

¹ Recebido para publicação a 17 de janeiro de 1945.

3. Face lateral do 2.^o articulo do palpo labial com uma faixa longitudinal de espinhos curtos (fig. 4) *littoralis* (Womersley)
- Face lateral do 2.^o articulo do palpo labial sem a mencionada faixa
..... *italica* (Grassi)
4. Bordo anterior do 2.^o articulo do palpo labial sem cerdas espiniformes ... 5
- Bordo anterior do 2.^o articulo do palpo labial com uma faixa de cerdas espiniformes compridas e relativamente fortes ... *hibernica* (Carpenter)
5. Bordo posterior do 2.^o articulo do palpo labial com cerdas espiniformes delicadas e relativamente compridas (fig. 13); face ventral de trocânter, fêmur e tibia anterior com cerdas espiniformes muito compridas (fig. 16); face interna do fêmur e tibia anterior com grande número de pêlos finos *thornleyi* (Womersley)
- Bordo posterior do 2.^o articulo do palpo labial com espinhos curtos e grossos (fig. 8); face ventral de trocânter, fêmur e tibia com cerdas espiniformes muito curtas (fig. 9); apenas a face interna da tibia anterior com numerosos pêlos compridos *saxicola* (Womersley)

Dilta littoralis (Womersley, 1930)

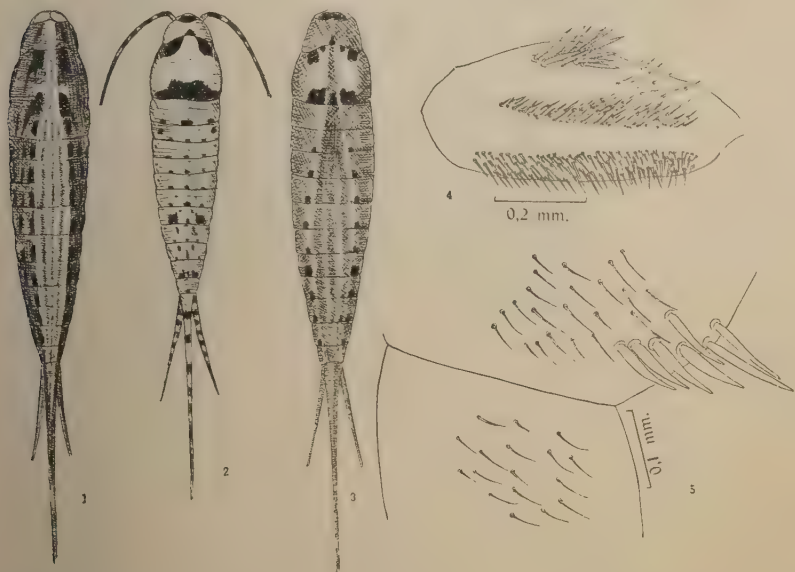
(Figs. 1-5)

Localidades: Lisboa, Serra do Monsanto, 3-4-1941, 10-4-1941, MARIANEK & WYGODZINSKY leg.: Lumiar, Lisboa, 25-4-1941, MARIANEK & WYGODZINSKY leg.: Cascais, 6-4-1941, MARIANEK & WYGODZINSKY leg.: Serra da Arrábida, 31-3-1941, 13-4-1941, MARIANEK, PFLUEGER & WYGODZINSKY leg.: Coimbra, 16-4-1941, WYGODZINSKY leg.

Os exemplares portugueses desta espécie, conhecida até agora apenas da Grã-Bretanha e da França, correspondem, quanto à sua morfologia, absolutamente à nossa descrição detalhada (WYGODZINSKY, 1941). Quanto ao desenho formado pelas escamas, o inseto se apresenta em três formas diferentes. A forma mais comum, encontrada em grande maioria nas 5 localidades citadas, é representada em nossa fig. 1. Os lados do corpo são de côr castanha avermelhada escura; a larga faixa longitudinal mediana, limitada por duas linhas de côr amarela esbranquiçada, é de côr castanha bastante clara, com manchas segmentais longitudinais ligeiramente mais escuras; esta faixa longitudinal mediana se prolonga sobre a base do *filamentum terminale*. As manchas na parte lateral do tórax e do abdômen são pretas; existem, ainda, 1--1 manchas brancas no mesotórax. Pelas últimas, esta forma se parece muito com *Machilis bimaculata* Lucas, descrita da África do Norte, e figurada numa plancha colorida (LUCAS, 1849). É provável que estas duas formas, tão parecidas entre si pelo desenho formado pelas escamas, sejam idênticas: neste caso, *littoralis* (Womersley) seria sinônimo de *bimaculata* (Lucas). O tipo de *Machilis bimaculata* Lucas, conservado no Museu de História Natural de Paris, e examinado anteriormente por nós, é uma fêmea; como no gênero *Dilta* a determinação específica é sumamente difícil neste sexo, seria neces-

sário, para resolver o presente caso, colher material na localidade típica (arredores de Argel) e compará-lo com material do continente europeu.

As outras duas formas, que não pudemos distinguir morfológicamente da acima descrita, tomando em conta todos os caracteres do macho e da fêmea adulta, são representadas nas figs. 2 e 3; possuímos as mesmas de Cascais, da Serra do Monsanto e de Lumiar, porém apenas em poucos exemplares, de ambos os sexos. O colorido geral destes animais é um amarelo sujo côr de azeitona, com reflexos metálicos verdes, azues e vermelhos; o mesotórax possui uma grande mancha de côr cinzenta clara; os elementos do desenho são pretos; as antenas e os apêndices caudais, de côr uniforme na forma considerada como típica, são anelados de claro e escuro.



Dila littoralis (Womersley) — Fig. 1: Esquema do desenho formado pelas escamas; fig. 2: idem, segundo tipo de desenho; fig. 3: idem, terceiro tipo de desenho; fig. 4: segundo artigo do palpo labial do macho; fig. 5: ápice do fêmur e da tibia anteriores do macho, parte ventral.

O desenho do segundo tipo desta variedade (fig. 3) corresponde quase absolutamente ao desenho de uma outra espécie, considerada aqui como *thornleyi* (Womersley), bem diferente pelos caracteres puramente morfológicos do macho. O presente caso mostra muito bem as relações elásticas entre os dois principais grupos de caracteres usados na taxonomia dos *Machilidae*: de um lado, os caracteres puramente morfológicos dos diversos escleritos, e, do outro lado, o desenho formado pelas escamas. Já mostramos em trabalho anterior (WYGODZINSKY, 1941) existirem dentro de um só gênero (*Machilis* Latreille) es-

pécies indistinguíveis entre si, considerando apenas o desenho, mas perfeitamente distintas pelos caracteres morfológicos, e dentro de um outro gênero (*Lepismachilis* Verhoeff) espécies quase iguais quanto aos caracteres morfológicos, pelo menos no sexo feminino, mas facilmente separáveis com auxílio do desenho formado pelas escamas. Agora nos é dado mostrar estas duas possibilidades acima mencionadas dentro de um só gênero, em duas espécies vizinhas.

Não queremos denominar estas três formas, por não saber qual a que representa a forma encontrada na Grã-Bretanha, e que deve conservar a denominação *littoralis littoralis*. Não achamos, aliás, impossível ser o inseto ali representado ainda por uma outra forma de desenho.

Dilta saricola (Womersley, 1930)
(Figs. 6-9)

Comprimento do corpo 10 mm. ou mais.

Desenho, formado pelas escamas, conforme fig. 6. Colorido geral verde azeitona escuro, elementos do desenho brancos e pretos. As quatro manchas brancas abdominais são relativamente muito grandes nos exemplares jovens, dando-lhes aspecto muito característico.

Olhos pretos; linha de contingência: comprimento = 0.3 — 0.5; comprimento: largura = 0.7. Ocelos subquadrados, escuros.

Artículos distais da antena subdivididos em 3 sub-artículos; cada um destes com 3 (ou raras vezes 4) subdivisões.

Palpo maxilar da fêmea delicado ou forte; o comprimento do último artigo corresponde mais ou menos a 2/3 do comprimento do penúltimo. Palpo maxilar do macho de forma variável, delicado ou forte. Comprimento do último artigo do palpo correspondendo a 2/3 do comprimento do penúltimo. Face ventral de todos os artigos com número moderado de cílios que atingem o comprimento do diâmetro do respectivo artigo.

Último artigo do palpo labial da fêmea ligeiramente alargado, claviforme, com os espinhos sensoriais apicais não muito numerosos. 2.º artigo do palpo labial do macho ligeiramente curvo; 3.º artigo alargado, formando quase um triângulo. Bordo posterior do 2.º artigo com uma faixa longitudinal de espinhos curtos e grossos, ligeiramente pigmentados. Face externa do 3.º artigo sem cerdas especializadas.

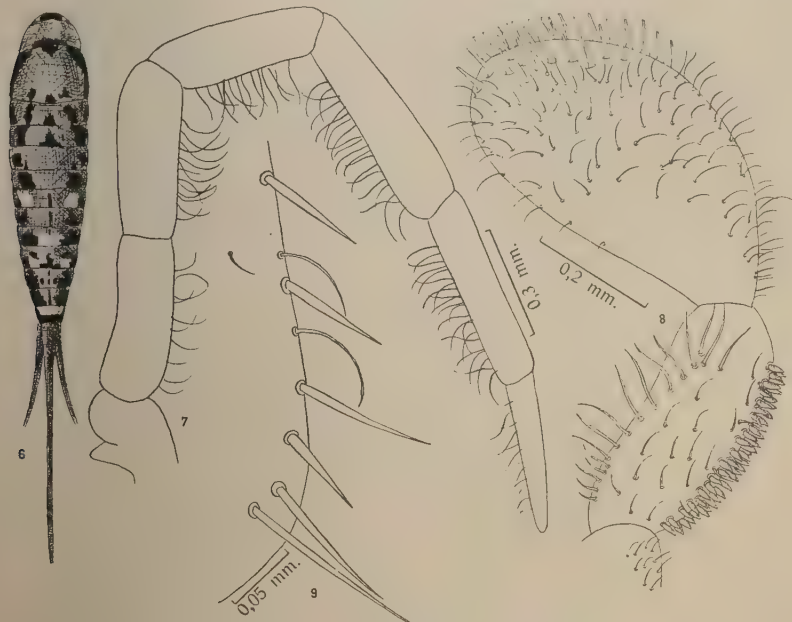
Pernas da fêmea de feitio usual. Pernas anteriores do macho com cerdas delicadas e muito numerosas na face interna da tíbia; face ventral do trocânter e fêmur com numerosas cerdas espiniformes curtas e grossas, as quais, porém, ficam mais compridas e delicadas para a parte apical do artigo. Pernas medianas e posteriores de feitio usual.

Urosternitos com pêlos muito numerosos; relação do comprimento dos *styli* e do comprimento do respectivo coxite da fêmea, nos segmentos: II-VII = 0.4; VIII = 0.7; IX = 0.7.

Ovipositor simples, atingindo os ápices das cerdas apicais dos *styli* do 9.º segmento. Gonapófises do 8.º segmento com cerca de 55 segmentos; cada um dos mesmos (com exceção dos da metade basal da gonapófise) com 3 cerdas fortes e compridas, e algumas delicadas e curtas. Segmentos distais com algu-

mas cerdas sensoriais curtas. Gonapófises do 9.^o segmento semelhantes, mas com as cerdas menos numerosas.

Relação dos *styli* e dos coxites do macho, nos segmentos: II-VII = 0.4; VIII = 0.5; IX = 0.8 — 1.0.



Dilta saricola (Womersley) — Fig. 6: Esquema do desenho formado pelas escamas; fig. 7: palpo maxilar do macho, esquematizado; fig. 8: palpo labial do macho; fig. 9: ápice do fêmur anterior do macho, ventral.

Parâmeros anteriores com 5-6, posteriores com 8 segmentos.

Penis ultrapassando ligeiramente os parâmeros do 9.^o segmento.

Localidades: Serra do Monsanto, Lisboa, 3-4-1941, 10-4-1941, MARIANEK & WYGODZINSKY leg.; Serra de Cintra, 4-4-1941, MARIANEK & WYGODZINSKY leg.; Serra da Arrábida, vale transversal muito úmido, com *Quercus spec.*, 31-3-1941, MARIANEK, PFLUEGER & WYGODZINSKY leg.; Serra da Arrábida, encosta do norte, 31-3-1941, 13-4-1941, MARIANEK, PFLUEGER & WYGODZINSKY leg.; Coimbra, nos arredores da cidade, 16-4-1941, WYGODZINSKY leg.

O macho da presente espécie é bem distinto dos demais do gênero pela armadura do palpo labial. Os caracteres dos espécimes portugueses correspondem relativamente bem aos descritos por WOMERSLEY (1930), sendo a única diferença encontrada no número das divisões primárias dos artigos distais das antenas: 3 em nossos exemplares, e 4 anos descritos por WOMERSLEY. Quanto ao desenho formado pelas escamas, que fornece um bom caráter específico, não possuímos informações sobre os insetos da Grã-Bretanha. Devido à semelhança bas-

tante grande dos dados a nossa disposição, adotamos, por enquanto, o nome específico *saxicola* para estas *Dilta*. Depois de examinar material das Ilhas Britânicas, vivo ou com as escamas bem conservadas, decidir-se-á definitivamente a posição sistemática do material proveniente das regiões indicadas de Portugal.

Dilta thornleyi (Womersley, 1930)

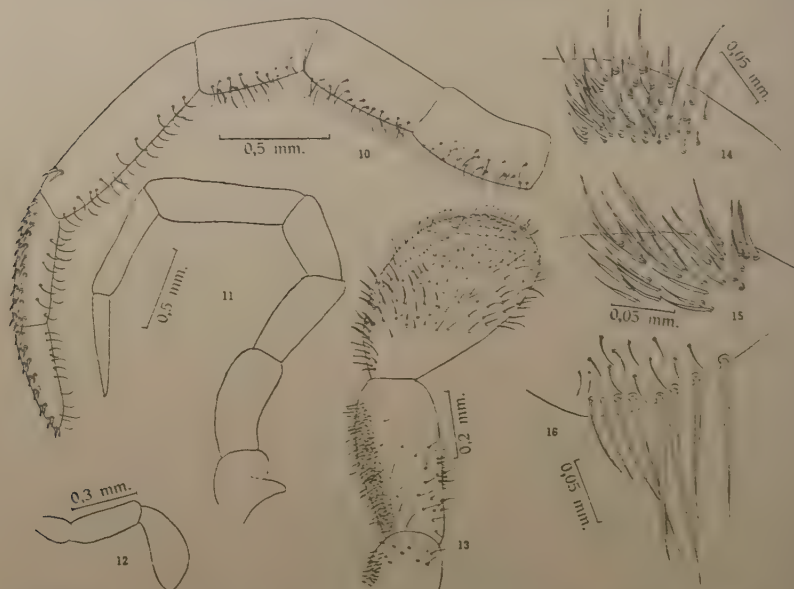
(Figs. 10-16)

Comprimento do corpo 10-11 mm.

Desenho, formado pelas escamas, como na fig. 3. Colorido das partes laterais do corpo, assim como do protorax e dos apêndices caudais, amarelo escuro cor de azeitona; mancha clara do mesotorax de cor amarela esbranquiçada, como é também a cor das estreitas faixas marginais, que limitam a larga faixa longitudinal mediana; esta última é de cor castanha avermelhada escura, com duas estreitas faixas submedianas mais claras. A mancha central do bordo posterior do pronoto, as 4 anteriores e 3 posteriores de mesotórax, e as 1+1 manchas nos urotergitos I-IX, são inteiramente pretas; tudo com fino reflexo metálico.

Côr dos olhos vermelha amarelada. Linha de contingência: comprimento = 0.3; comprimento: largura = 0.7. Ocelos subquadrados, escuros.

Artículos distais das antenas subdivididos, resultando 4 sub-artículos, que por sua vez podem ser subdivididos mais uma vez.



Dilta thornleyi (Womersley). — Fig. 10: Palpo maxilar do macho, esquematizado; fig. 11: palpo maxilar da fêmea, forma geral; fig. 12: palpo labial da fêmea, forma geral; fig. 13: palpo labial do macho; fig. 14: cerdas espiniformes do bordo posterior do segundo artigo do palpo labial do macho, da face externa; fig. 15: idem, da face externa; fig. 16: apice do fêmur anterior do macho, ventral.

Palpo maxilar de forma variavel, forte ou delicado. Palpo maxilar da fêmea conforme fig. 11; último articulo do comprimento do penúltimo. Todos os articulos do palpo maxilar do macho com cilios na sua face ventral; estes cilios não atingem o comprimento do diâmetro do respectivo articulo. Os dois últimos articulos curtos, de comprimento idêntico. Espinhos hialinos do último articulo muito curtos.

Palpo labial da fêmea conforme fig. 12. Último articulo do palpo labial do macho alargado, suboval. Bordo posterior dos 1.º e 2.º articulos com uma larga faixa de cerdas espiniformes hialinas, de comprimento variado; bordo anterior do 2.º articulo com alguns pêlos curtos pouco numerosos; bordo externo do articulo distal, além de escamas e cerdas regulares, com numerosas cerdas espiniformes, delgadas e ligeiramente pigmentadas. Número dos espinhos sensoriais da face anterior do último articulo elevado.

Pernas da fêmea de feitio usual; cerdas da face ventral dos articulos bastante numerosas. Face interna do fêmur e tibia anterior do macho com grande número de pêlos finos; face ventral do trocânter e fêmur com numerosas cerdas espiniformes compridas.

Relação dos *styli* e coxitos da fêmea, nos segmentos: II-VII = 0.5; VIII = 0.7; IX = 0.7.

Ovipositor simples, atingindo os ápices das cerdas distais dos *styli* do 9.º segmento. Gonapófises anteriores com 55-60 segmentos, de feitio usual.

Relação dos *styli* e coxitos do macho, nos segmentos: II-VII = 0.4 — 0.5; VIII = 0.6; IX = 0.6 — 0.7.

Face dorsal do coxito IX com alguns pêlos finos e compridos. Os dois pares de parâmeros com 7 segmentos. Penis de feitio usual, não atingindo os ápices dos parâmeros posteriores.

Localidade: Bussaco, Serra de Bussaco, 19-4-1941, WYGODZINSKY leg.

Não é com certeza absoluta, que referimos a presente espécie à descrita por WOMERSLEY em 1930. Difere desta em alguns pormenores de importância secundária, como por exemplo o número das subdivisões dos articulos distais das antenas. Considerando, porém, a descrição demasiadamente curta dada por WOMERSLEY, que não menciona caracteres hoje considerados como importantes, e considerando ainda o fato de não conhecermos o desenho dos espécimes britânicos, deixamos para pesquisas posteriores, nossas ou de outros, a colocação definitiva dos exemplares de Bussaco.

Machilinae Verhoeff, 1910

Promesomachilis Silvestri, 1923

Promesomachilis costai n. sp.

(Figs. 17-24)

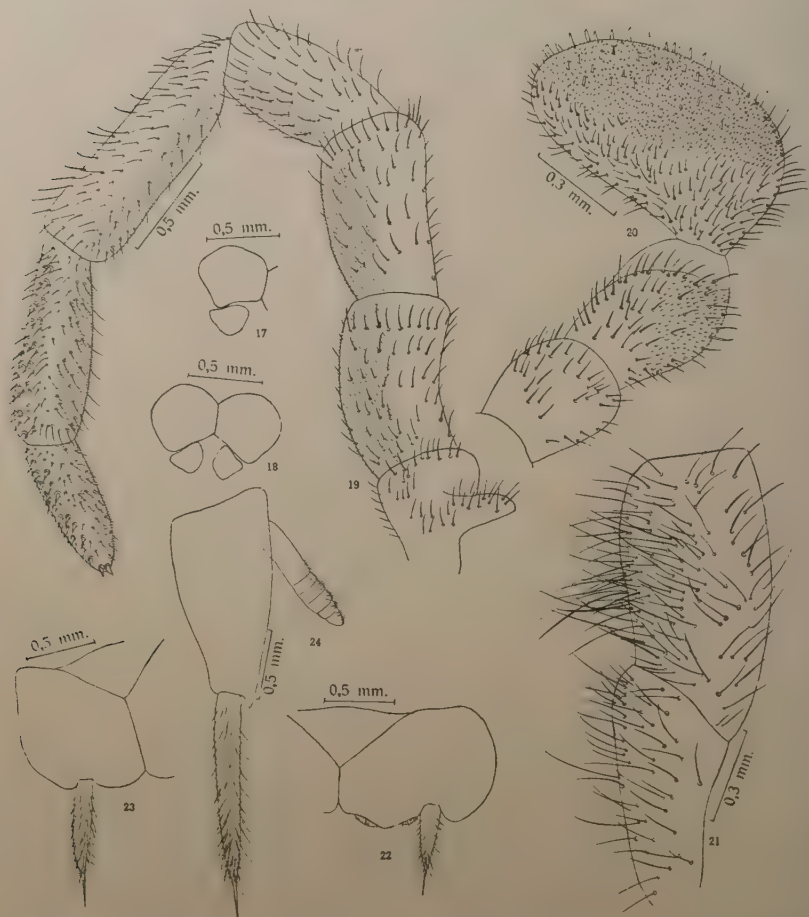
Macho — Comprimento do corpo 9 mm. Desenho formado pelas escamas muito parecido com o que se encontra na maioria das espécies do género *Machilis*, por exemplo em *Machilis annulicornis* Latreille (conforme fig. 8, in WYGODZINSKY, 1941, e fig. 1, in: WYGODZINSKY, 1944).

Olhos conforme figs. 17 e 18; comprimento: largura = 1.0; linha de contingência: comprimento = 0.4. Ocelos subtriangulares (figs. 17 e 18).

Antenas atingindo o comprimento do corpo; artículos distais subdivididos em 15-20 sub-artículos; alternativamente os 4 ou 6 sub-artículos basais de cada artícolo hialinos, os restantes pigmentados.

Mandíbulas com 4 dentes bem desenvolvidos.

Artículos do palpo maxilar fortes, subparalelos. Artícolo distal atingindo dois terços do comprimento do penúltimo. Face ventral dos artículos III-VIII com grande número de pêlos finíssimos e muito curtos, alguns cílios curtos, algumas cerdas curtas nos artículos basais, e ainda escamas pequenas e muito escuras em todos os artículos. Espinhos hialinos dorsais do último artícolo muito curtos.



Promesomachilis costai n. sp., macho — Fig. 17: Olho e ocelo, aspecto lateral; fig. 18: olhos e ocelos, aspecto frontal; fig. 19: palpo maxilar; fig. 20: palpo labial; fig. 21: trocânter e fêmur posterior; fig. 22: parte do 5.º urosternito; fig. 23: parte do 8.º urosternito; fig. 24: 9.º urosternito, com parâmero.

Palpo labial curto e forte. Último articulo bastante alargado, de forma sub-oval; na sua face distal, além de sensilas cônicas, numerosíssimos pêlos sensoriais muito finos.

Pernas fortes; processos coxais presentes apenas no 3.º par; cerdas delicadas bastante compridas em número regular presentes em todos os articulos, porém mais numerosas no trocânter e fêmur, mormente do 3.º par.

Urosternitos I, VI e VII com 1 par de vesículas cada um; II-V com dois pares. *Styli* relativamente curtos; relação *stylius*: coxito, nos segmentos: II-VII = 0.6; VIII = 0.7; IX = 1.0 — 1.1.

Parte basal do penis lisa; parte distal de forma oval, com numerosas cerdas curtas na metade apical; abertura apical com uma papila em forma de roseta. Parâmeros quase do comprimento do penis, de 6 segmentos, com espinhos não muito numerosos na face interna.

Localidade: Azinheiro dos Barros, Baixo Alentejo, 19-4-1941, ANTONIO DA COSTA leg. (Holótipo macho, a ser depositado no Museu Bocage, Lisboa).

Até agora, duas espécies do gênero *Promesomachilis* eram conhecidas: *hispanica* Silvestri, 1923, de Sevilha, e *handschini* Wygodzinsky, 1941, de Marrocos; desta última espécie se conhece apenas a fêmea. Do macho da espécie ibérica, distinguimos *costai* como segue:

- Último articulo do palpo labial alargado, subtriangular; *styli* abdominais delgados, os do 9.º segmento muito mais compridos do que o respectivo coxito *hispanica* Silvestri
- Último articulo do palpo labial alargado, suboval (fig. 20); *styli* abdominais curtos, os do 9.º segmento do comprimento do respectivo coxito *costai* n. sp.

Devido à falta de descrição detalhada das pernas do macho de *hispanica* Silvestri, não podemos julgar o valor taxonômico das cerdas muito compridas e numerosas de trocânter e fêmur do terceiro par de pernas, encontradas em *costai*.

O nome da nova espécie é dado em homenagem ao nosso amigo ANTONIO DA COSTA, colecionador do espécime.

Machilis Latreille, 1796
Machilis lusitana n. sp.
 (Figs. 25-32)

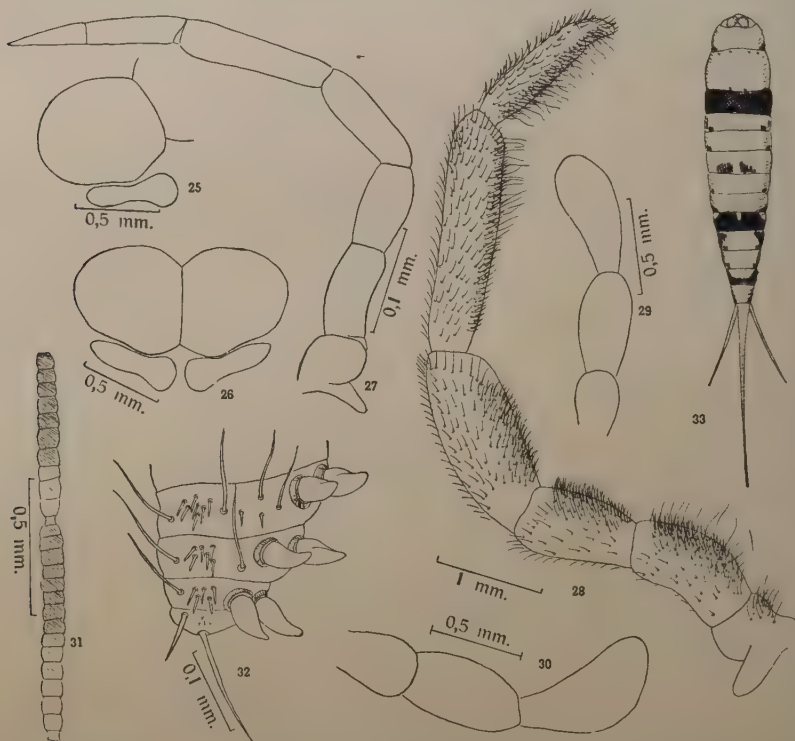
Comprimento máximo observado 13 mm.

Desenho formado pelas escamas muito parecido com o de *Machilis annulicornis* Latreille; colorido geral cinzento claro, elementos de desenho cinzento escuros ou pretos.

Colorido dos olhos cinzento claro, com ou sem manchas irregulares. Comprimento: largura = 0.95; linha de contingência: comprimento = 0.7. Fronte pigmentada, com linha longitudinal mediana clara. Clipeo do macho com numerosos pêlos finos e compridos:

Antenas mais compridas que o corpo. Escapo com mancha de pigmento hipodermal; artículos distais alternativamente com 2-4 ou (4-) 6-10 (-12) sub-artículos basais hialinos, os restantes distintamente pigmentados.

Palpo maxilar da fêmea com manchas de pigmento da seguinte distribuição: artículo II com mancha não muito grande; III com faixa estreita longitudinal, que se alarga para o ápice; IV totalmente pigmentado, com exceção de anéis estreitos basais e distais; V com mancha basal pouco distinta, e mancha mediana mais pronunciada; os outros artículos sem pigmento. Forma geral do palpo conforme fig. 27; último artículo atingindo 4/5 do comprimento do penúltimo. Pigmento do palpo maxilar do macho menos extenso do que na fêmea, porém de distribuição parecida. Forma geral do palpo conforme fig 28;



Machilis lusitana n. sp. — Fig. 25: olho e ocelo, aspecto lateral; fig. 26: olhos e ocelos, aspecto frontal; fig. 27: palpo maxilar da fêmea, forma geral; fig. 28: palpo maxilar do macho; fig. 29: palpo labial da fêmea, forma geral; fig. 30: palpo labial do macho, forma geral; fig. 31: dois artículos da parte distal da antena; fig. 32: artículos distais da gonapófise anterior da fêmea. Fig. 33: *Machilis* sp., da Serra de Cintra, esquema do desenho formado pelas escamas.

comprimento do último artículo correspondendo a 1/4 do comprimento do penúltimo. Cerdas ventrais fortes, não muito cerradas, de comprimento relativamente grande, pigmentadas distintamente nos artículos distais do palpo; cílios ventrais no 2.º e 3.º, na parte distal do 6.º, e nos 7.º e 8.º artículos, não muito numerosos, atingindo o comprimento do diâmetro dos respectivos artículos.

Submento do palpo labial da fêmea fortemente pigmentado; forma do palpo conforme fig. 29. Forma do palpo labial do macho conforme fig. 30; cílios no 2.º e 3.º artículo.

Pernas da fêmea com manchas de pigmento de tamanho médio na coxa, na parte distal do fêmur e na parte dorsal da tibia; estas manchas são menos extensas no 3.º par de pernas. Tibia do 1.º par sem, do 2.º com 0-1 e do 3.º par com cerca de 7 cerdas espiniformes ventrais curtas e distintamente pigmentadas. Pigmento das pernas do macho menos extenso, de distribuição parecida; fêmur, tibia e tarso anterior com cílios distintos; tibia anterior com 0-1, mediana com cerca de 4 e posterior com 7-10 cerdas espiniformes ventrais distintamente pigmentadas.

Urosternitos com pêlos pouco numerosos. Cerdas distais dos *styli* fortemente pigmentadas, mormente nos últimos segmentos; cerda distal relativamente curta. Relação *stylus*: coxito da fêmea, nos segmentos: II-VII = 0.6; VIII = 1.0; IX = 1.1.

Ovipositor de tipo secundário, quase atingindo o ápice dos *styli* do último segmento. Gonapófises anteriores compostas de 35-40 segmentos; espinhos fossórios fortes, não inteiramente pretos; sua distribuição: 1-2, 2-3, 2-3, 0-2; bastões fossórios inseridos em número de 1 em cada segmento; 6-7 grupos de no máximo 8 bastões sensoriais; cerda terminal forte, do comprimento dos 2-3 últimos segmentos juntos; cerdas dos segmentos relativamente finas, atingindo o comprimento de 3 segmentos juntos. Distribuição dos espinhos fossórios nas gonapófises posteriores: 1, 2-3, 2, 0-2; bastões fossórios em número de 1 em cada segmento.

Relação *stylus*: coxito do macho, nos segmentos: II-VII = 0.7 — 0.8; VIII = 0.9; IX = 1.6.

Parâmeros do 8.º segmento com cerca de 5, os do 9.º segmento com cerca de 7 divisões; pénis não atingindo o ápice dos parâmeros do 9.º segmento.

Localidades: Serra de Cintra, 4-4-1941, MARIANEK & WYGODZINSKY leg. (holótipo macho, alótipo fêmea, a serem depositados no Museu Bocage, Lisboa); Serra da Arrábida, alto da Serra, 31-3-1943, MARIANEK, PFLUEGER & WYGODZINSKY leg.

Em nossa chave para os machos do gênero *Machilis* (WYGODZINSKY, 1940, 1941), *lusitana* entra no número 30, com as espécies *vallicola* Wygod. e *robusta* Wygod., das quais, porém, se distingue facilmente pelas antenas aneladas, pelos caracteres do palpo maxilar, e outros. A fêmea de *lusitana* entra na chave já mencionada no número 27; as três espécies ali citadas, *engiadina* Wygod., *tirolensis* Verhoeff e *tici-nensis* Wygod. diferem da nossa por possuir alternativamente um artículo da parte distal da antena uniformemente escuro, e o outro com alguns subartículos basais claros; em *lusitana*, todos os artículos distais possuem subartículos basais claros.

Machilis spp.

Possuimos vários espécimes de *Machilis*, os quais, tratando-se de formas imaturas, não podem ser determinados. Dentre esses insetos, salientamos uma espécie encontrada na Serra de Cintra, juntamente

com *Machilis lusitana* n. sp., e que se distingue pelo desenho bem peculiar formado pelas escamas (fig. 33). A larga faixa preta, que ocupa o mesonoto, lembra o desenho de *Machilis ticinensis* Wygod., da qual, porém, se distingue ainda pela faixa do 6.^o urotergito. Esta bela forma merece ser descrita e denominada, o que só pode ser feito se tivermos exemplares adultos em mão.

Localidades : Serra de Cintra, 4-4-1941, MARIANEK & WYGODZINSKY leg. (a espécie figurada em fig. 33); Coimbra, 18-4-1941, WYGODZINSKY leg. (outra espécie, de desenho usual).

SUMMARY

The author, having examined 6 species of *Machilidae* from Portugal, gives descriptions of *Promesomachilis costai* and *Machilis lusitana* n. spp., and redescribes *Dilta saricola* (Womersley) and *Dilta thornleyi* (Womersley), giving finally an account on the three colour forms of *Dilta littoralis* (Womersley), as found near Lisboa.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- LUCAS, H., 1849, *Exploration scientifique de l'Algérie pendant les années 1840-1842. Zoologie I. Thysanoures de l'Algérie. Histoire Naturelle des Animaux articulées*, vol. 1. Paris.
- WOMERSLEY, H., 1930, Contributions to a study of the British species of *Machilidae*. I. The genus *Praemachilis*. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, (10)5:
- WYGODZINSKY, P., 1940, Beitrage zur Kenntnis der Dipluren und Thysanuren der Schweiz. *Verh. Nat. Ges. Basel*, 51:40-64.
- WYGODZINSKY, P., 1941, Beitrage zur Kenntnis der Dipluren und Thysanuren der Schweiz. *Mém. Soc. Helv. Sci. Nat.*, 74:113-227, 3 figs., 10 pls.
- WYGODZINSKY, P., 1944, Contribuição ao conhecimento da família *Machilidae* (Thysanura) do México, do Brasil e da Argentina. *Rev. Ent., Rio de Janeiro*, 15:54-96, 190 figs.

ANTIBODIES AGAINST SHEEP ERYTHROCYTES AND EOSINOPHILES PRODUCED IN SUBJECTS INJECTED WITH SALINE EXTRACT OF "ASCARIS LUMBRICOIDES SUUM"¹

ALFONSO GRAÑA

Instituto de Higiene Experimental, Montevideo, Uruguay

In recent paper (GRAÑA, 1944 a) we have pointed out that the patients carriers of hydatid cyst develop antibodies for the sheep red cells on being injected with hydatid liquid. As the development of such antibodies is maximum in the hypersensitive patients to the liquid injected and as they do not appear in patients without hydatid cyst, we present the hypothesis that for their development the existence of a sensibilization to the hydatid antigen is necessary. Moreover we point out that the intradermic injections of hydatid liquid allowed the obtaining of the most rapid and intense reactions and that an increase of eosinophiles in the blood accompanied the development of such heterophile antibodies. This increase of eosinophiles was always rapid becoming evident, at times, 24 hours after commencing the intradermic injections.

In another series of investigations (GRAÑA, 1944 b) we reached the conclusion that this increase of eosinophiles was not produced in patients without hydatid cyst, injected in the same way thereby confirming, in human pathology, the hypothesis held by HERRICH (1931) and CAMPBELL (1943) who affirm that the appearance of eosinophiles in parasitosis, is the result of the meeting of the antigen with cell sensibilized to same.

In this paper we describe the investigations which have allowed us to obtain increases of antibodies for the red cells of sheep and eosinophiles in subjects injected with a normal saline extract of *Ascaris lumbricoides suum*. On the other hand we point out that rabbits injected

¹ Received for publication December 23, 1944.

This work was begun during our staying in São Paulo, Brasil, at the Instituto Biológico.

with the same antigen of *Ascaris lumbricoides suum*, or injected with diverse proteins, to which they had previously been sensitized, did not develop markedly this type of antibodies.

EXPERIENCES

Eight adults, none of them having eggs of *Ascaris lumbricoides* in their stools, were injected with a normal saline extract of *Ascaris lumbricoides suum* and the eosinophiles of the blood and antibodies for the red cells of sheep, were studied before and at variable intervals, following the injections. Cases one to four presenting positive cutaneous reactions with *Ascaris* extracts came from the State of S. Paulo, Brazil. The first two cases have had *Ascaris* in childhood, the third presented eggs of *Ancylostoma duodenale* in the feces and the fourth was not infested by worm parasites. The last four cases showing negative cutaneous reactions came from Montevideo where the ascariidiosis is rare and the ankylostomosis is inexistent. The antigen was injected by intradermic way giving 1 cc. divided in 4 papules, daily during 5 days. Four normal rabbits were injected in the same conditions with 1 cc. of antigen during 5 days and the hemolysins for the red cell of sheep of their serum, titrated before and at 10 and 15 days after beginning treatment. The same antigen was used in all the experiments and had 750 γ of N per cc. dosified by Kjeldahl's method. In order to prepare it 5 g. of *Ascaris*, after being washed in distilled water were macerated in a mortar and submitted to extraction by saline serum during 48 hours in the ice-box. The antigen thus obtained was filtered through filter paper and then sterilized through Seitz.

In the second group of experiments, made with the object of studying the effect of the reinjections of foreign proteins in rabbits previously sensitized, we utilize 12 rabbits, 4 of them were injected subcutaneously with 2 cc. of pig serum and 2 with 2 cc. of Merck crystallized ovalbumin in 3% saline serum every 2 days during 8 days. 15 days after the last injection each one of them was injected intracutaneously with 1 cc. divided in 4 papules of the corresponding antigen.

The reinjections were made daily during 5 days and in all the rabbits there appeared evident Arthus' phenomena with intense necrosis and haemorrhage. The other 6 rabbits were sensitized with horse serum, following Grove's procedure and 28 days after the sensitizing injections, when the rabbits gave positive intradermic reactions they were injected daily and subcutaneously with 4 cc. of horse serum during 5 days. The hemolysins for the red cells of sheep were titrated beforehand and 10 and 15 days after the beginning of the reinjections. The technique of the titration of hemolysins and agglutinins was described formerly (1944 a).

RESULTS

As shown in Table I, the subjects which showed dermic sensibility to the antigen of *Ascaris lumbricoides suum* manifested by reddening and swelling in the sites injected and which persisted 24 and 48 hours, provoked rapidly (24 hours) an increase of eosinophiles in the peripheral blood and then (6 to 8 days) an increase of antibodies for the red

cells of sheep. The maximum titration observed was of 1:2048 for the hemolysins and 1:256 for the agglutinins. The subjects in which the injection of this antigen provoked only a passing irritative reaction and which are represented with a negative intradermic reaction did not

TABLE I

CASE	INTRADERMIC REACTION	AGGLUTININS		HEMOLYSINS		EOSINOPHILES IN THE BLOOD (%)	
		BEFORE INJECT.	DAYS AFTER THE INJECT.	BEFORE INJECT.	DAYS AFTER THE INJECT.	BEFORE INJECT.	DAYS AFTER THE INJECT.
1	+++	1:8	4 — 1:16 7 — 1:256 10 — 1:128 12 — 1:128 14 — 1:128	1:16	4 — 1:32 7 — 1:2048 10 — 1:512 12 — 1:512 14 — 1:512	0	1 — 12% 2 — 18% 15 — 17%
2	+++	1:4	6 — 1:128	1:4	6 — 1:512	1	1 — 12 2 — 14
3	++	1:2	3 — 1:8 6 — 1:32 8 — 1:32 10 — 1:16	1:16	3 — 1:16 6 — 1:16 8 — 1:128 10 — 1:128	6	1 — 12 2 — 14 7 — 21
4	+		3 — 1:16 8 — 1:64	1:8	3 — 1:4 8 — 1:8	6	1 — 7 2 — 5 7 — 15
5	+	1:2	8 — 1:4 13 — 1:4	1:4	8 — 1:64 13 — 1:32	6	2 — 9 4 — 9 5 — 12 8 — 11
6	—	—	8 — — 13 — 1:2	—	8 — 1:8 13 — 1:32	1	2 — 2 4 — 3 8 — 3
7	—	1:2	8 — — 13 — —	1:2	8 — 1:32 13 — 1:16	3	2 — 1 4 — 1 8 — 2
8	—	— (*)	8 — 1:4 13 — 1:16	—	8 — — 13 — —	6	2 — 2 4 — 3 8 — 3

* Means that the agglutination or hemolysis is negative with the dilution 1:2 of the serum.

make any increase of eosinophiles and the antibodies for the red cells of sheep were within the limits considered as normal. In the 4 rabbits injected with the same quantities of the *Ascaris lumbricoides suum*

TABLE II

RABBIT	ANTIGEN	BEFORE THE INJECT.	DAYS AFTER THE INJECT.
1	<i>Ascaris lumbricoides suum</i>	—	10 — 1:2 15 — 1:2
2	<i>Ascaris lumbricoides suum</i>	—	10 — 1:4 15 — 1:4
3	<i>Ascaris lumbricoides suum</i>	1:2	10 — 1:4 15 — 1:2
4	<i>Ascaris lumbricoides suum</i>	1:2	10 — 1:2 15 — —

antigen, an increase of hemolysins for the sheep red cells was not produced (Table II). In the 6 rabbits in which Arthur's phenomena was provoked, no marked increase of hemolysins was observed though the rabbit 6 passed from the titration of 1:4 to 1:128 (Table III). In 6 rab-

TABLE III

RABBIT	ANTIGEN	HEMOLYSINS	
		BEFORE ARTHUR PHENOM.	DAYS AFTER THE A. PHEN.
1	Ovoalbumin.....	1:2	5 — 1:2 10 — —
2	Ovoalbumin.....	1:2	5 — 1:2 10 — 1:4
3	Pig serum.....	— —	5 — 1:8 10 — 1:8
4	Pig serum.....	1:4	5 — 1:2 10 — —
5	Pig serum.....	1:4	5 — 1:8 10 — —
6	Pig serum.....	1:4	5 — 1:128 10 — 1:32

bits repeatedly injected with horse serum an increase of hemolysins observed, being considered as normal variations of the animal (Table IV).

TABLE IV

RABBIT	ANTIGEN	BEFORE THE INJECT.	DAYS AFTER THE INJECT.
1	Horse serum	1:4	28 — 1:16 38 — 1:32
2	Horse serum....	1:2	28 — 1:16 38 — —
3	Horse serum....	1:2	28 — 1:4 38 — —
4	Horse serum....	1:16	28 — 1:32 38 — 1:4
5	Horse serum....	—	28 — 1:16 38 — 1:8
6	Horse serum	1:8	28 — 1:16 38 — 1:1

COMMENTS

The phenomena already described in the case of patients with hydatid cyst injected with hydatid liquid is repeated, as shown by our anterior investigations, in the case of subjects injected with the saline antigen of *Ascaris lumbricoides suum*; like in patients carriers of

hydatid cyst, a certain relation between the intensity of the reaction of the skin to the antigen injected and the development of eosinophiles and antibodies for the red cells of sheep is observed. The development of eosinophiles which took place only in those subjects who gave positive reactions to the antigen of *Ascaris lumbricoides suum*, at the same time that reproduces the phenomena observed with the injection of hydatid liquid supports HERRICK & CAMPBELL's hypothesis, of the necessity of a previous sensibilization so as the antigen of *Ascaris lumbricoides suum* and of other parasite to produce an increase of eosinophiles.

The fact that the sensibilized rabbits and afterwards reinjected repeatedly with the same antigen do not develop marked increase of hemolysins antisheep, in spite of producing intense local reactions, present the possibility that the development of these heterophile antibodies may correspond to a reaction particular to human beings that has or has had parasites on being injected with the corresponding antigen. On the other hand it is interesting the fact that horse serum which provokes an increase of hemolysins and agglutinins for the red cells of sheep in patients injected with it, specially when a serum disease comes, do not produce marked increases of hemolysins in rabbits as DEICHER (1926) pointed out and confirmed by us in these investigations.

SUMMARY

The extract of *Ascaris lumbricoides suum* provokes, in the period of 6 to 8 days, the development of antibodies for the red cells of sheep on being injected intradermically in subjects that give local reactions in the zones injected and a notable increase of eosinophiles which appear 24 hours after injecting. In sensibilized rabbits, previously to ovalbumin, horse serum or pig serum there did not appear marked increases of hemolysins for the red cells of sheep on reinjecting them with the corresponding antigen in spite of there being intense cutaneous reactions in the zones injected.

SUMARIO

O extrato de *Ascaris lumbricoides suum* provoca, no periodo de 6 a 8 dias, o desenvolvimento de anticorpos para as hemátias de carneiro quando injetado por via intradérmica em pacientes que dão reações locais nas zonas injetadas e com notavel aumento de eosinófilos que aparecem 24 horas depois de iniciadas as injeções.

Em coelhos sensibilizados previamente para a ovalbumina, sôro de cavalo ou sôro de porco aparece aumento sensível de hemolisinas para as hemátias de carneiro, quando injetadas com o antígeno correspondente, apesar de produzirem-se intensas reações cutâneas nas zonas injetadas.

BIBLIOGRAPHY

1. GRAÑA, A., 1944a, Antibodies against sheep erythrocytes produced by the injection of hydatid liquid in patients with hydatid cyst. *J. Immunol.*, 48:203-270.
2. GRAÑA, A., 1944b, Eosinofilias producidas en pacientes con quiste hidático, injetados con líquido hidático. *Medicina*, 4:290-294.
3. HERRICK, W. W., 1913, Experimental eosinophilia with an extract of an animal parasite. *Arch. Int. Med.*, 11:165-186.
4. CAMPBELL, D. H., 1942, Experimental eosinophilia with keratin from *Ascaris suum* and other sources. *J. Infect. Dis.*, 79:270.
5. GROVE, E., 1932, Studies in anaphylaxis in the rabbit. *J. Immunol.*, 23-101-123.
6. DEICHER, H., 1926, Über die Erzeugung heterospezifischen Hämmagglutinins durch Injektion artfremden Serums. *Z. Hyg. u. Infekt. Krankh.*, 106:561-579.

“ANOPLOCEPHALA MAMILANA” (CESTODA, ANOPLOCEPHALIDAE) EM EQUINOS NO BRASIL¹

MOACIR G. FREITAS

Escola Superior de Veterinária, Minas Gerais

(Com 2 figuras no texto)

Até o ano de 1943, se havia registrado no Brasil, apenas uma espécie da família *Anoplocephalidae*: a *Anoplocephala perfoliata* observada pela primeira vez por PARREIRAS HORTA, em 1916.

Em 1943, RIBEIRO GANDRA constata em São Paulo a segunda espécie: *Anoplocephala magna*.

Nesse mesmo ano tivemos a oportunidade de verificar a *Anoplocephala mamilana*, que descrevemos no presente trabalho. Assim, com o nosso achado, elevam-se a três as espécies deste gênero já observadas no país.

Os nossos primeiros exemplares de *Anoplocephala mamilana* foram colhidos em julho de 1943, do intestino delgado de um cavalo de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais. Ulteriormente, em necrópsia de outro cavalo, em dezembro do mesmo ano, tivemos ocasião de observar outro caso de parasitose pela referida espécie de cestóide.

Como a *Anoplocephala mamilana* não foi assinalada no Brasil até a data dos nossos trabalhos, resolvemos fazer esta comunicação, para dar conhecimento de mais um representante da fauna parasitária dos nossos animais domésticos.

Anoplocephala mamilana (Mehlis, 1831) Blanchard, 1891

Taenia mamilana Mehlis, 1831.

Taenia globiceps Diesing, 1856.

Anoplocephala globiceps (Diesing, 1856) Lütke, 1895.

Paranoplocephala mamilana (Mehlis, 1831).

Anoplocephaloides mamilana (Mehlis, 1831) Baer, 1924.

Das três espécies de cestóides, acima referidas como parasitos de equinos, a *Anoplocephala mamilana* é a de menores dimensões. Seu comprimento médio,

¹ Recebido para publicação a 28 de novembro de 1944.

segundo BECKER, é de 25 mm., enquanto para DOUTHITT é de 6 a 30 mm. Nos exemplares por nós examinados, o comprimento máximo observado foi de 37 mm. com uma média de 22 mm., aproximadamente. O número de proglotes varia, segundo os autores, de 30 a 50. Encontramos exemplares com 38 proglotes e alguns com apenas 30. A coloração que se nos apresenta é branca amarelada, devido talvez à impregnação pelos pigmentos do conteúdo intestinal, pois os animais foram necropsiados muitas horas após a morte.

O escolex se apresenta inerm e com o bordo posterior sem distinção nítida com os primeiros proglotes. Nos exemplares montados por compressão mede 0,7 a 0,8 mm. de comprimento por 0,4 de largura. As ventosas, inermes, estão em situação mais lateral do que apical, sendo observadas como depressões ovais rasas, de bordos lisos que nos exemplares conservados em líquido de Railliet & Henry, apresentam-se ligeiramente salientes. O diâmetro longitudinal mede cerca de 0,4 mm. e o diâmetro transversal mede 0,2 mm. Nos bordos ventral e lateral do escolex, entre as ventosas, observamos um sulco bem acentuado, no sentido longitudinal. Pescoço praticamente indistinto.

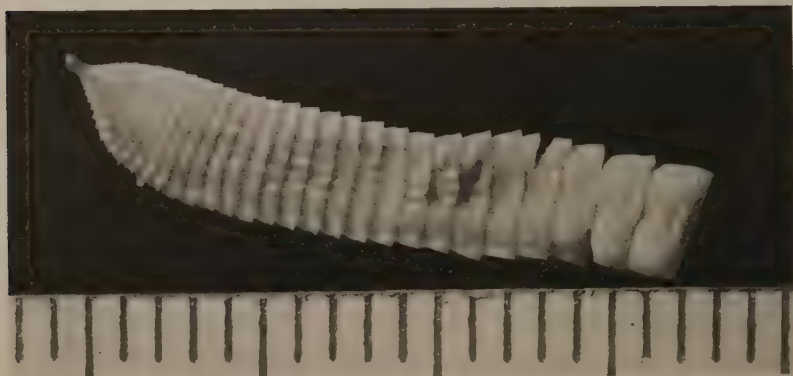


Fig. 1 — *Anoplocephala mamilana* (Mehlis, 1831) Blanchard, 1891. Foto Wolf.

Os proglotes examinados isoladamente, se apresentam sob a forma trapezoidal, sendo mais largos que compridos. Nos exemplares completos do cestóide, os proglotes são melhor observados na metade anterior, porque estes são menos imbricados. Nesta região do estróbilo os bordos dos anéis são mais denteados e na região mediana os bordos posteriores são mais alargados, porém nunca foliáceos como em *Anoplocephala perfoliata*.

O comprimento do proglote varia segundo a região considerada; no terço anterior 0,4 mm., em média; no terço médio 1,2 mm.; e no terço posterior atinge a 2,2 mm. A largura máxima dos proglotes, próxima da extremidade distal, nos proglotes maduros é de 5,5 mm., em média. Os proglotes grávidos se reduzem na largura e têm uma forma quase quadrangular.

Aparelho genital masculino — Os testículos são em número de 60 a 90 e apresentam-se arredondados, com um diâmetro de 85 μ em cada um, em média; estão situados no lado do proglote oposto ao poro genital.

O canal deferente dilata-se para formar uma primeira vesícula seminal antes de penetrar na bolsa do cirro, no interior da qual de novo se dilata, para formar uma segunda vesícula.

A bolsa do cirro é muito volumosa, medindo 1,5 mm. de comprimento por 0,6 mm. de largura, sendo muito característica pela sua forma abaulada, o que aliás só se evidencia do 6.º anel para trás pela diferenciação da organização interna do parasito.

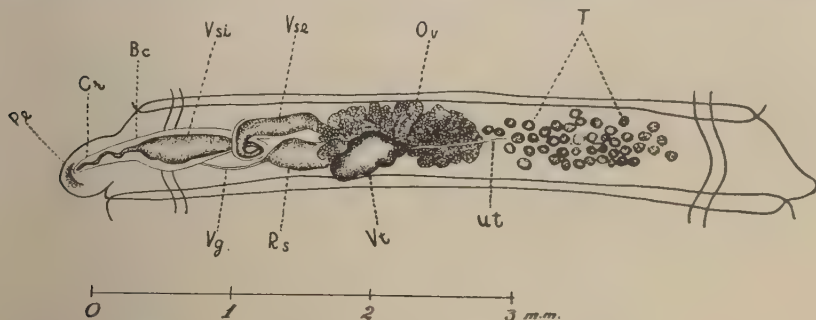


Fig. 2 — Proglote maduro de *Anoplocephala mamilana*. Des. Shymola. Abreviaturas: Pe — poro excretor; Cr — cirrus; Bc — Bolsa do cirro; Vsi — vesícula seminal interna; Vse — vesícula seminal externa; Ov — ovário; T — testículos; Vg — vagina; Rs — receptáculo seminal; Vt — glândulas vitelínicas; Ut — útero.

Aparelho genital feminino — O ovário apresenta-se sob a forma de leque, cuja base está voltada para o bordo posterior do proglote. Ao redor e lateralmente ao ovário encontram-se a bolsa do cirro, a vesícula seminal, o canal deferente e os testículos, enquanto no centro o ovário é contíguo às glândulas vitelínicas e de Mehlis.

As glândulas vitelínicas estão situadas ventralmente no centro do proglote, e, em conjunto, se apresentam como um órgão reniforme e compacto, com 300 μ de diâmetro, entrando em relação com o ovário pela parte superior e com o receptáculo seminal, lateralmente.

O útero é um tubo transversal nos proglotes maduros, que, nos proglotes grávidos, torna-se sacciforme, lobulado, para conter os ovos e de tal modo se dilata que acaba ocupando a quase totalidade do corpo do proglote. Os ovos, característicos da família *Anoplocephalidae*, com aparelho piriforme, medem 70 x 65 μ de diâmetro, em média.

A vagina termina atrás da bolsa do cirro, na face ventral do bordo do proglote, numa saliência onde também vem se abrir o poro genital masculino.

RESUMO

O autor observou pela primeira vez no Brasil a *Anoplocephala mamilana* (Mehlis, 1831) Blanchard, 1891 (Cestoda, Anoplocephalidae) de que dá pormenorizada descrição. O parasito foi colhido do intestino delgado de dois equinos do Estado de Minas Gerais em datas diferentes. Com o encontro deste cestóide elevam-se a três as espécies de *Anoplocephala* parasitando equinos no Brasil, a saber: *Anoplocephala perfoliata*, *A. magna* e *A. mamilana*.

SUMMARY

The author has observed, for the first time in Brazil, the parasite *Anoplocephala mamilana* (Mehlis, 1831) Blanchard, 1891 (Cestoda, Anoplocephalidae). A detailed description of the parasite is given. The material was caught in the

small intestine of two horses, in different epochs, at the State of Minas Gerais. With this description, we have now three species of *Anoplocephala* which parasite horses in our country: *A. perfoliata*, *A. magna* and *A. mamilana*.

BIBLIOGRAFIA

- BAER, J. G., 1927, Monographie des cestodes de la famille des Anoplocephalidae. *Suppl. Bull Biol. France*, X.
- BAYLIS, H. A., 1929, *A Manual of Helminthology Medical and Veterinary*. XI - 303 pp., 200 figs., Baillière, Tindall and Cox, London.
- BECKER, R., 1921, Die aussere Gestalt der Pferdebandwürmer. *Zbl. Bkt.*, 88:483-501.
- DOUTHITT, H., 1915, Studies on the Cestoda Family Anoplocephalidae. *Illinois Biol. Monogr.*, 1(3);
- GANDRA, Y. R., 1943, Ocorrência no Brasil da *Anoplocephala magna* (Cestoda-Anoplocephalidae) parasita de equídeos. *Rev. Fac. Med. Vet., S. Paulo*, 2(3):
- MONNIG, H. O., 1941, *Veterinary Helminthology and Entomology*. Baillière Tindall & Cox, London.
- NEVEU-LEMAIRE, M., 1936, *Traité d'Helminthologie médicale et vétérinaire*. XXIII - 1524 pp., 787 figs., Vigot Frères, Paris.
- PINTO, C., 1938, *Zooparasitos de interesse médico e veterinário*. 376 pp., figs. Pimenta de Mello & Cia., Rio de Janeiro.
- PINTO, C. & ALMEIDA, J. L., 1935, Sinopse dos helmintos dos animais domésticos do Brasil. *O Campo*, 6(8):54-63.

STUDIES IN NEOTROPICAL MALLOPHAGA (V) The Lipeuroid Forms of the New World "Galliformes". Part 2 ¹

M. A. CARRIKER, JR.

(With 42 figures)

Eiconolipeurus n. g.

Closely related to *Oxylipeurus* Mjoberg, as defined by CLAY (P. Z. S., July, 1938, p. 157), being nearest to her "group five", consisting of *O. postemarginatus* (Carriker). As far as now known, it is restricted to the avian genus *Odontophorus*.

Head circumfasciate; trabeculae small, but distinct, and present in both sexes. Antennae sexually dimorphic, the first segment much enlarged in the male, and with a prominent hook on the under side; third segment with distal end lengthened far beyond point of articulation with the fourth. The chitin along the clypeal suture is sometimes thickened in a crenulated line, but always with two ovoid, deeply pigmented projections; transverse clypeal suture well marked; post antennal suture curving backward from trabeculae behind the well developed pharyngeal sclerite. Strongly developed antennal bands, broken at clypeal suture, and narrow, sinuate temporal bands from prominent eye to occiput; a deeply pigmented blotch at each side of occiput. Head in female wider posteriorly than in the male, and the abdomen elongated oval instead of nearly parallel-sided.

Meso-metathoracic suture visible at sides of pterothorax; heads of abdominal pleurites strongly re-entering, with a rather complicated structure, and with internal dorsal struts. Abdominal segments VIII and IX completely fused in both sexes, but with the line of the suture not always visible. In the male the abdomen ends in two pairs of more or less elongated hooks, the outer pair nearly straight, while the inner pair is curved on their outer sides. It is this inner pair of hooks which enters between the single pair of claspers of the female during copulation.

The male genitalia seems to be of a unique type, and rather difficult of interpretation. The genital armature itself is exceedingly minute, consisting of a slender, poorly chitinized and non-pigmented basal plate, at the end of which

¹ Received for publication November 7, 1944.

The first part of this paper was published in this Revista, vol. 4, n. 4, pp. 557-585 — December, 1944.

seem to be fused minute paramers. No other details are visible. From the emarginated posterior margin of abdominal segment VIII back of the middle pair of claspers, protrudes a long, tubular sheath, a continuation of the body integument, and the genital armature lies *within* this sheath, which extends backward between, or over, the inner pair of apical hooks, and for some distance beyond their tips. This genital tube must not be confused with the tubular process attached to the sternal surface of segment VIII in some forms of *Oxylipeurus*, while there are no clumps of hairs at the sides of this tubular process, as found in that genus.

Genotype: *Eiconolipeurus importunuus* n. sp.

There are specimens of *Eiconolipeurus* in my collection from nine species of *Odontophorus*, ranging from Costa Rica to Bolivia, and for the most part they resemble each other more closely than do many of their respective hosts.

Oxylipeurus postemarginatus, and its allies (all from species of *Ortalis*) resemble superficially to a marked degree, the various species of *Eiconolipeurus*, except for the curious abdominal structure in the males and the male genitalia, which cannot possibly be reconciled with that of *Oxylipeurus*.

Eiconolipeurus importunuus n. sp.

(Figs. 1-5)

Types — Male and female adults, from *Odontophorus g. gujanensis*, collected at Sta. Ana, Rio Coroico, Bolivia, July 22, 1934, by M. A. Carriker, Jr.

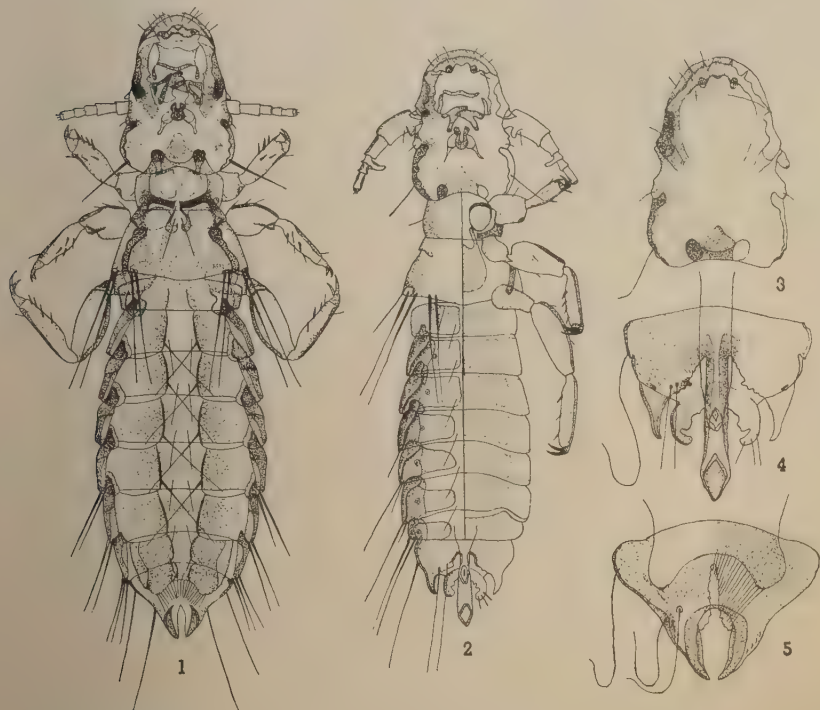
Male: Head elongated oval, with sub-parallel sides; pre-antennal area long, with front circular, occipital margin deeply concave; temples rounded and slightly wider than head at base of trabeculae. Antennal bands rather wide, scalloped on inner edge, deeply pigmented, and ending in a small, oval projection at base of trabeculae. Clypeal band continuous from suture to suture, narrow, and less pigmented than antennal bands. Clypeal area faintly pigmented and ending in a crenulated line at suture, anterior to which are two small, oval, deeply pigmented, ventral, chitinous projections, characteristic of this group.

Deeply pigmented temporal bands, wider at anterior end, and scalloped on inner margin, extend from eye to temporal angles. Occipital bands reduced to two oval, deeply-pigmented spots on occipital margin, at each side of gular plate, which is acutely pointed in front. Mandibles of medium size and rather slender; pharyngeal sclerite and glands prominent; eye protruding, clear, with bristle.

Antennae large, first segment much swollen and lengthened, with a conspicuous hook on posterior margin; 2nd segment also rather large; 3rd segment short, and with long lateral projection; 4th segment also very short, and 5th nearly as long as 2nd, but slender. Three small hairs on each side of clypeal band, one at the clypeal suture, one on 1st segment of antennae, and one longish hair in middle of temples.

Thorax with combined segments shorter than head; prothorax but little more than half as long as pterothorax, with convex sides, in the middle of

which is a short hair; posterior margin transverse. Pterothorax wider than head, the meso-metathoracic suture visible at sides; sides slightly convex and divergent, with rather sharp posterior angles, and posterior margin slightly pointed medially, with the two halves slightly concave. A slender hair in the posterior angle, and two pairs of long, heavy hairs on posterior margin, the one nearest the angle with a large pustule.



Eiconolipeurus importunus n. sp. — Fig. 1: Body of female; fig. 2: body of male; fig. 3: head of female; fig. 4: tip of male abdomen; fig. 5: tip of female abdomen.

Abdomen nearly parallell-sided, widest at segments IV to VI. Segment I shorter than II, with straight sides, exposed anterior angles, and without heavy pleural plates. Conspicuous, deeply pigmented pleural plates in segments II to VII, with deeply re-entering heads, and outer portion of sclerite more heavily chitinized than inner. Tergal plates broken medially on segments I to VII, and separated laterally by hyaline margins along the sutures, more conspicuous on segments IV to VII. Sternal plates entire. Segments VIII and IX fused, while that portion representing segment IX is reduced to two pairs of curving hooks, the outer pair flexible, but not movable, and inner pair movable. Segments I to III without hairs in posterior angles; IV with one hair; V to VII with two hairs, and VIII with one marginal and two dorsal hairs; the inner pair of hooks each with three short hairs; one dorsal hair on segments I to VII near median line, in posterior portion of segment.

Legs of moderate size and with well-developed claws. The genitalia have been adequately described under the generic description.

Female: Larger than male, with larger head and abdomen and wider ptero-thorax; abdomen elongated oval, widest at segments IV and V. Pleural plates same as in male, but tergites widely separated along median line on segments I to VI, but continuous on VII and VIII. Sternal plates as in male.

Segments VIII and IX fused, and IX reduced to a pair of curved, movable claspers, which clasp the inner pair of hooks of the male during copulation. A small, well-developed sternal, genital plate, covering a portion of segments VII and VIII. Chaetotaxy similar to that of male, except that there seems to be more short hairs on the clypeal area; no hairs in angle of ptero-thorax, only the two pairs on posterior margin; no hairs at angles of pleurites I to IV, but two in segments V and VI, three on VII, one on margin of VIII, with another near fused line between VIII and IX. The posterior margin of the genital plate is deeply concave, and bears a row of fine hairs (see figure), while there are four minute bristles set along the thickened outer edge of the clasper, pointing inward (see figure).

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.77		1.97	
Head.....				
{ at trabeculae.....	.46	{ .29	.53	{ .32
{ at temples.....		.326		.355
Prothorax.....	.12	.26	.11	.28
Pterothorax.....	.22	.38	.22	.41
Abdomen.....	1.02	.42	1.16	.44
Antennae (1st. seg.).....	.13	.07	.22	(entire) .04
Genital tube.....	.22	.047		
C. I.....	.63	and .60	.70	and .67

Two ♂♂ and 5 ♀♀, including the types, taken on the type host. One ♀ examined from the Meinertzhagen collection (No. 3249), from the same host, collected in British Guiana, June 1904.

The various forms of *Eiconolipeurus* found on *Odontophorus*, as listed below, form a closely related, compact group, certainly less differentiated among themselves than many of the hosts upon which they are found.

There are, however, no two of them alike. They all differ from each other in some particular, either size and shape of head, thorax, antennae, or genital apparatus in one or both sexes. After a careful study of these differences it seems best to give most of them specific, rather than subspecific rank.

The following keys, with the assistance of the figures given, will serve to identify both sexes of the nine species and subspecies which

now form the group, while detailed measurements of each appear under their respective headings.

KEY TO THE MALES OF THE *EICONOLPEURUS IMPORTUNUS* GROUP

- A. Both pairs of "claspers" at tip of abdomen well developed, the outer pair nearly as long, or longer, than the inner pair.
- a. Size larger. Total length about 2 mm.; head about .53 x .38 to .41; abdominal segment VIII with anterior margin sinuate, with median portion rounded; outer pair of genital hooks well developed and acuminate; inner pair sharply bent and of unusual shape (see figure) *E.melanotis* n. sp.
- aa. Size smaller. Total length from 1.66 to 1.88; head .44 to .47 (except in *repandus* .50) long; anterior margin of abdominal segment VIII not sinuate, either transverse or slightly angulated, with the sides straight to middle.
- b. Anterior margin of abdominal segment VIII angulated; 1st segment of antennae unusually slender, with sharp hook and crenulated posterior margin; outer pair of genital hooks long and slender, with sinuate outer margin; inner hooks with small, narrow tips and wide bases; genital tube long (.27 mm.) ... *E.repandus* n. sp.
- bb. Anterior margin of segment VIII transverse, or but very slightly angulated.
- c. Lateral pair of hooks with more or less incurved tips, convex outer and concave inner margins.
- d. Inner pair of claspers with inner margin serrated.
- e. Genital tube very slender, constricted towards the tip, and with bluntly-tapering tip, with no trace of the wide apical opening, with upper lip folded back; front of head rather pointed, with sides convex (not circular); 1st segment of antennae short and thickened, especially at base ... *E.sanctae-martae sanctae-martae* n. sp.
- ee. Genital tube constricted at base, widening towards the tip, with broad opening and upper lip folded back; front of head circular, with sides *concave* behind clypeal suture; 1st segment of antennae rather slender and almost parallel-sides *E.importunus* n. sp.
- dd. Inner pair of claspers seemingly fused into a single plate, with convex outer margins and somewhat serrated posterior margin; genital tube thickened medially, constricted subapically, and with spatulate tip, *without lip*; sides of segment VIII nearly straight ... *E.sanctae-martae perijanus* n. ssp.
- cc. Lateral pair of abdominal claspers long and straight, with outer margin straight and inner slightly *convex*; a rather large, rounded pleural plate in anterior portion of segment VIII; genital tube thickened basally and tapering apically to a slender "neck" just back of the wide, open-lipped, apical opening *E.venezuelanus* n. sp.

- AA. Outer pair of "claspers" very small, almost obsolete, being reduced to a short, pointed projection; inner pair of hooks also shorter than usual and thickened basally (laterally); genital tube long, of uniform thickness and tapering tip.
- a. Size large, length nearly 2 mm.; head about .52 x .36; temples strongly sinuate *E.sinuosus* n. sp.
- aa. Size much smaller, length about 1.80 mm.; head .45 x .31; temples not sinuate *E.hamatus* n. sp.

KEY TO THE FEMALES

- A. Size larger, body length 2 mm. or more (1.99 to 2.19); anterior margin of abdominal segment VIII broadly rounded or sinuate, with median portion sharply and broadly convex (never angulated or transverse).
- a. Anterior margin of abdominal segment VIII sinuate; length 2.14 mm.; claspers slender, tapering, and sharply curved, with three bristles on outer margin, which are longer than width of clasper; circle of fine hairs on genital plate deeply concave, extending back almost to anterior margin of segment VIII *E.melanotis* n. sp.
- aa. Anterior margin of abdominal segment VIII uniformly curving (convex).
- b. More slender; head narrower at temples (.355 against .38); prothorax shorter and slightly narrower (.11 x .28 against .15 x .28); pterothorax of same length but much narrower (.22 x .41 against .22 x .465); abdomen much slenderer, resembling shape of abdomen in male (1.16 x .44 against 1.11 x .61); suture between segments VIII and IX invisible; claspers shorter and imbedded within segment VIII for half their length; four bristles on clasper very short and set *outside* of clasper (see fig.) *E.importunus* n. sp.
- bb. Body segments and head wider (see measurements above under *importunus*); suture between segments VIII and IX clearly visible, circular; claspers longer, more slender apically and scarcely imbedded in segment VIII; four bristles on clasper *itself*, very short and fine (see fig.) *E.repandus* n. sp.
- AA. Anterior margin of abdominal segment VIII neither curving or sinuate, but nearly transverse to angulate, although the point of the angle may be flatly rounded, and two sides of the angle may be either very slightly convex or concave.
- a. Line of fine hairs along posterior margin of genital plate not deeply rounded, merely flatly concave.
- b. Abdominal segment VIII long, with IX short and narrow, and with the suture between the two scarcely visible; claspers small and somewhat slender, and rather deeply imbedded in segment VIII.
- c. Segment IX with anterior margin rounded.
- d. Anterior margin of segment VIII very flatly convex, almost transverse, with sides also slightly convex; claspers shorter and thicker *E.sanctae-martae perijanus* n. ssp.

- dd. Anterior margin of segment VIII slightly angulated, and with the two sides of the angle slightly concave; sides of segment also *concave*; claspers larger, slender, and more widely separated *E.sinuosus* n. sp.
- cc. Segment IX with anterior margin attenuated medially; segment VIII with anterior margin angulated, but the two sides somewhat convex, and with sides of segment *straight*; claspers slender *E.hamatus* n. sp.
- bb. Segment VIII shorter, and IX longer and wider, with complete suture visible; claspers heavier and less deeply imbedded; three very short bristles on clasper, posterior to hair at suture, and two in front of this hair ... *E.sanctae-martae sanctae-martae* n. sp.
- aa. Line of fine hairs across segment VIII deeply circular.
- b. Circle of fine hairs with middle portion close to anterior margin of segment VIII, with circle wider and deeper; segment VIII longer and wider at anterior margin; claspers longer and with but three bristles, longer and heavier *E.venezuelanus venezuelanus* n. sp.
- bb. Circle of fine hairs with middle portion in middle of segment VIII, circle narrower and less deep; segment VIII shorter and narrower at anterior margin; claspers shorter and with the three bristles very short and fine ... *E.venezuelanus guttatus* n. ssp.

Eiconolipeurus hamatus n. sp.

(Figs. 6-8)

Types — Male and female adults, from *Odontophorus balliviani*, collected by the author at San Cristobal, Dept. Cochabamba, Bolivia, Jan. 24, 1937 (types in coll. of the author).

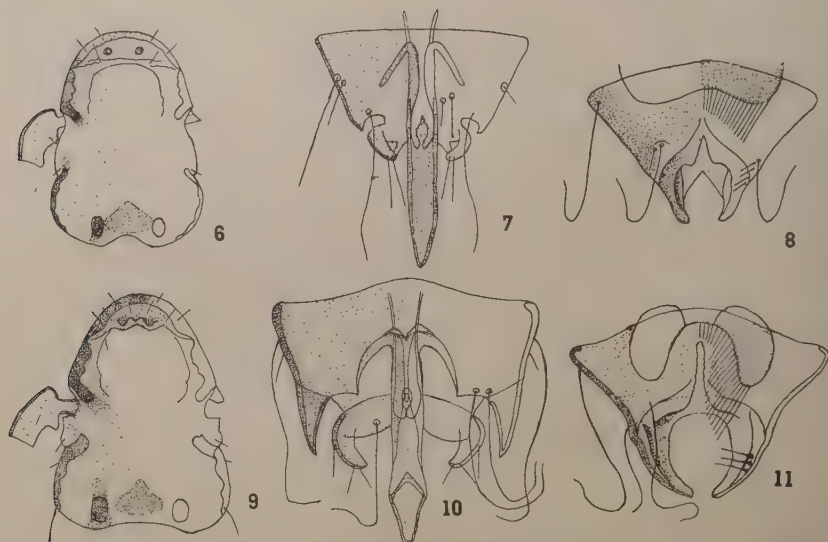
Three ♂♂ and three ♀♀ (including the types) taken on the type host.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.80		1.88	
Head. { at frons.....	.456	{ .29	.51	{ .31
{ at temples.....		.31		.35
Prothorax.....	.11	.25	.11	.26
Pterothorax.....	.22	.336	.22	.39
Abdomen.....	1.06	.37	1.08	.38 to .52
Antennae (1st. seg. ♂).....	.13	.084	.22	.03
Genital tube.....	.22	.047		
C. L.....	.63 and .68		.61 and .70	

Eiconolipeurus melanotis n. sp.

(Figs. 9-11)

Types — Male and female adults, from *Odontophorus melanotis*, collected by the author at Guapiles, Costa Rica, March, 1903 (types in coll. of the author).



Eiconolipeurus hamatus n. sp. — Fig. 6: Head of male; fig. 7: tip of male abdomen; fig. 8: tip of female abdomen. *Eiconolipeurus melanotis* n. sp. — Fig. 9: Head of male; fig. 10: tip of male abdomen; fig. 11: tip of female abdomen.

Two ♂♂ and two ♀♀ (including the types) taken on type host; 2 ♂♂ and 4 ♀♀ from same host, collected by the author at Guacimo, Costa Rica, Feb. 23, 1903; 1 ♀ from same host, Rio Sicsola, C. R., Feb. 26, 1904.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	2.01		2.14	
Head { at frons.....	.53	.38	.53	.33
{ at temples.....		.41		.39
Prothorax.....	.17	.31	.174	.32
Pterothorax.....	.25	.456	.25	.50
Abdomen.....	1.13	.43	1.26	.56
Antennae (1st. seg. ♂).....	.155	.12	.27	.043
Genital tube.....	.28	.06		
C. L.....	.72 and .77		.62 and .74	

Eiconolipeurus sanctae-martae sanctae-martae n. sp.

(Figs. 12-14)

Types — Male and female adults, from *Odontophorus atrifrons*, collected by the author at hacienda Cincinnati, Santa Marta, Colombia, July 17, 1913 (types in coll. of author).

Four ♂♂ and ten ♀♀ in the type series.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.76		1.91	
Head. {at frons.....	.456	.30	.50	.326
Head. {at temples.....		.31		.37
Prothorax.....	.15	.285	.13	.27
Pterothorax.....	.22	.39	.195	.41
Abdomen.....	.97	.35	1.15	.56
Antennae (1st. seg. ♂).....	.13	.095	.24	.043
Genital tube.....	.24	.03		
C. L.....	.66 and .68		.65 and .74	

Eiconolipeurus sanctae-martae perijanus n. ssp.

(Figs. 15-17)

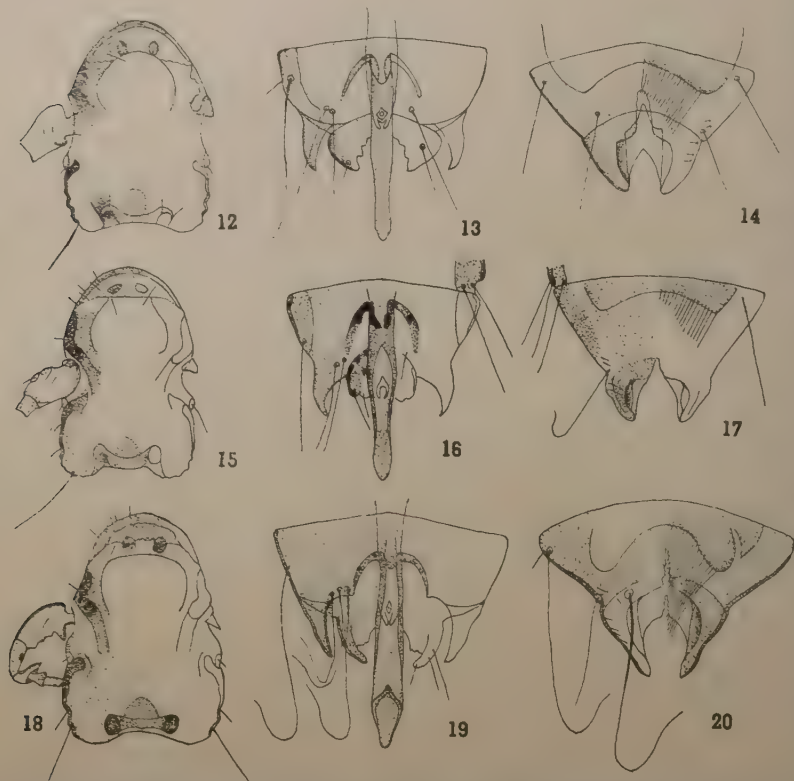
Types — Male and female adults, from *Odontophorus atrifrons variaegatus*, collected by the author at Monte Elias, Sierra Perijá, Colombia, August, 2, 1941 (types in U. S. Nat. Museum).

This race is smaller than the nominate form in both sexes, and in *all* measurements except the length of the pterothorax, which is *greater* in both sexes, and genital tube in the ♂, which is both longer and thicker.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.67		1.84	
Head. {at frons.....	.44	.28	.48	.30
Head. {at temples.....		.29		.33
Prothorax.....	.13	.24	.11	.20
Pterothorax.....	.24	.33	.24	.37
Abdomen.....	.95	.35	1.13	.46
Antennae (1st. seg. ♂).....	.13	.085	.22	.03
Genital tube.....	.26	.043		
C. L.....	.636 and .66		.625 and .688	

The trabeculae in the ♀ are much smaller than in the ♂, being exceedingly minute and easily overlooked: the thickened portion of the clypeal band is of different shape (see fig.), as well as the occipital blotches and the gular plate. Segment VIII in the ♂ is narrower, with sides less convex, while the suture between it and segment IX is invisible: the outer pair of claspers are very similar, but the inner pair are narrower and of different shape.

In the ♀ segment VIII is longer, with the anterior margin less angulated; the line of sternal setae is of similar shape, but the hairs are shorter. Segment IX is much smaller, with line of fusion invisible: the claspers are smaller and of slightly different shape, while but two lateral spines are present on it, instead of three.



Eiconolipeurus sanctae-martae sanctae-martae n. sp. — Fig. 12: Head of male; fig. 13: tip of male abdomen; fig. 14: tip of female abdomen. *Eiconolipeurus sanctae-martae perijanus* n. ssp. — Fig. 15: Head of male; fig. 16: tip of male abdomen; fig. 17: tip of female abdomen. *Eiconolipeurus repandus* n. sp. — Fig. 18: Head of male; fig. 19: tip of male abdomen; fig. 20: tip of female abdomen.

This race is very close to *sanctae-martae*, as would be expected from its host, whose range is the Eastern Andes and Sierra Perijá of Colombia, while *sanctae-martae* is found on *O. atrifrons*, of the Sierra Nevada de Sta. Marta, and separated from the Sierra Perijá by perhaps 18

miles of lowlands. The two hosts are also closely related, *atrifrons* probably having been derived from *variegatus*.

Eiconolipeurus repandus n. sp.

(Figs. 18-20)

Types — Male and female adults from *Odontophorus gujanensis marmoratus*, collected by the author at Peru Mine, near El Callao, Venezuela, May 11, 1910 (types in coll. of the author).

There are 10 ♂♂ and 12 ♀♀ in the type series; 2 ♂♂ and 5 ♀♀ from the same host, collected at Boca Chaparé, Rio Chaparé, Bolivia, Aug. 25, 1937, and 1 ♀ examined from the Meinertzhagen collection, taken in Panama, January, 1900, slide No. 3252).

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.88		2.06	
Head. {at frons.....	.50	{ .30	.53	{ .325
{at temples.....		.345		.38
Prothorax.....	.15	.28	.15	.29
Pterothorax.....	.215	.41	.22	.465
Abdomen.....	1.07	.42	1.11	.61
Antennae (1st. seg. ♂).....	.14	.095	.26	.043
Genital tube.....	.27	.04		
C. L.....	.60 and .70		.61 and .72	

Eiconolipeurus venezuelanus venezuelanus n. sp.

(Figs. 21-23)

Types — Male and female adults, from *Odontophorus colombianus*, collected by the author at La Cumbre de Valencia, Venezuela, Oct. 10, 1910 (types in coll. of the author).

Five ♂♂ and seven ♀♀ (including the types) comprise the type series.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.75		1.99	
Head. {at frons.....	.465	{ .28	.52	{ .31
{at temples.....		.31		.36
Prothorax.....	.12	.26	.12	.28
Pterothorax.....	.185	.35	.22	.41
Abdomen.....	.92	.35	1.19	.58
Antennae (1st. seg. ♂).....	.13	.075	.215	.035
Genital tube.....	.245	.045		
C. L.....	.60 and .67		.60 and .69	

Eiconolipeurus venezuelanus guttatus n. ssp.

(Fig. 24)

Type — Female adult, from *Odontophorus guttatus*, collected by the author on the Volcano Irazu, Costa Rica, April, 1902 (type in coll. of the author).

This form is represented by a single female, the type. It is possible that when the ♂ has been taken it will prove to be a distinct species, but the female alone does not possess characters of distinctive specific value.

MEASUREMENTS	FEMALE	
	length	width
Body.....	1.91	
Head. { at frons.....	.52	{ .30
{ at temples.....		
Prothorax.....	.12	.27
Pterothorax.....	.23	.42
Abdomen.....	1.14	.52
Antennae.....	.24	.042
C. I.....	.58 and .70	

Eiconolipeurus sinuosus n. sp.

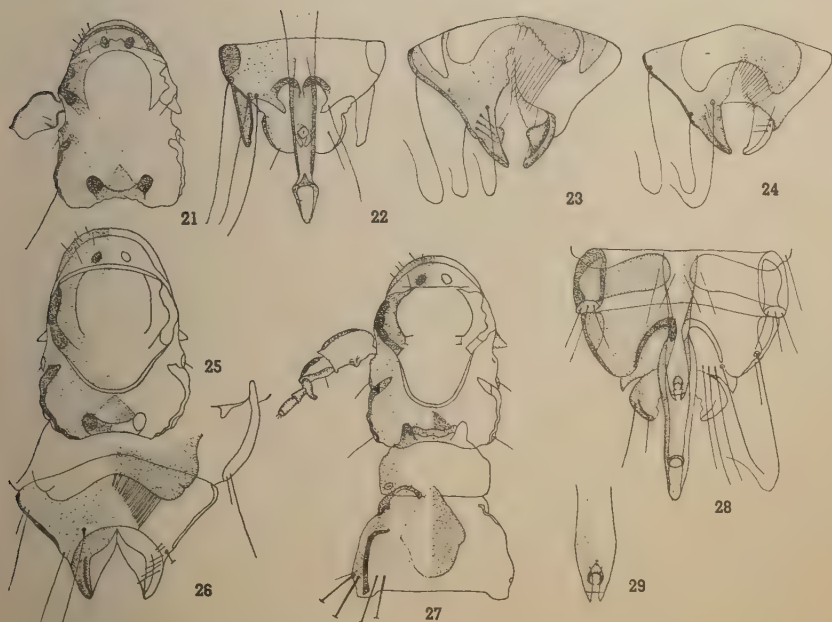
(Figs. 25-29)

Types — Male and female adults, from *Odontophorus capueira*, collected by F. Plaumann at Nova Teutonia, Brazil, July 4, 1940 (types in coll. of G. H. E. Hopkins).

This species, like *hamatus*, is recognized at a glance by the wide, rounded pre-antennal area, wide, rounded temples; narrow, concave occiput, and especially by the very short, almost obsolete outer pair of abdominal hooks on segment VIII in the male.

The male differs from *hamatus* in narrower head, shorter segment VIII, with strongly convex sides (instead of straight); shorter genital tube, and larger inner pair of claspers. The female presents few, if any, striking differences, the only one of note being the shape of segment VIII, which is flatly rounded anteriorly, instead of being angulated.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.96		2.19	
Head.....				
{ at frons.....	.52	{ .326	.564	{ .347
{ at temples.....		.358		.395
Prothorax.....	.16	.30	.15	.314
Pterothorax.....	.285	.434	.27	.475
Abdomen.....	1.13	.435	1.32	.65
Antennae (entire).....	.31	.10	.26	.046
Genital tube.....	.303	.065		
C. I.....	.63 and .69		.615 and .70	



Eiconolipeurus venezuelanus n. sp. — Fig. 21: Head of male; fig. 22: tip of male abdomen; fig. 23: tip of female abdomen. *Eiconolipeurus venezuelanus guttatus* n. ssp. — Fig. 24: Tip of female abdomen. *Eiconolipeurus sinuosus* n. sp. — Fig. 25: Head of female; fig. 26: tip of female abdomen; fig. 27: head of male; fig. 28: tip of male abdomen; fig. 29: male genitalia.

It is a significant fact that these two species, *hamatus* and *sinuosus*, so unlike the others species of this group, are from hosts found far to the south in South America, one in the mountainous region of southern Brazil and the other in southeastern Bolivia.

Epicolinus n. g.

Genotype : *Lipeurus clavatus* McGregor.

This species was placed under *Oxylipeurus* by Miss CLAY, as the sole representative of her "group four". It also has a superficial resemblance (especially in the females) to *Eiconolipeurus* and to the *postmarginatus* group in *Oxylipeurus*.

The genus differs from *Oxylipeurus* and *Eiconolipeurus* by the absence of a transverse clypeal suture and post-antennal suture; the antennal bands are continuous and unbroken around the entire circular front of the head, and are, together with the temporal bands, narrow, with but a slightly enlarged and deeply pigmented spot at their extremities (at the base of the trabeculae and at edge of the eye).

There is a slight indication of the clypeal suture in the form of a narrow line across the median portion of the clypeal area, slightly forward of the point on the lateral margin of the head where the clypeal bands are narrowest. There are also two faintly chitinized nodules in the anterior portion of the clypeal area, just within, or slightly back of the clypeal band. These nodules correspond to those found in *Eiconolipeurus*, except for their location and fainter pigmentation, those in *Eiconolipeurus* being under, or near the clypeal suture, and deeply pigmented.

It differs also from *Eiconolipeurus* in the entire absence of both pairs of hooks or claspers at the tip of the abdomen in the male, segment IX being somewhat narrowed, with posterior margin rather deeply notched, and in this respect conforms more or less to *Oxylipeurus*.

The male genitalia differ from both *Oxylipeurus* and *Eiconolipeurus*, being nearer to the latter, but to a certain extent forming a connecting link between the two. A tubular process, longer and differently shaped from that in the *Oxylipeurus postmarginatus* group is attached in the median portion of the 8th tergite, not near its posterior margin, as in *Eiconolipeurus*. This tubular process, unlike that found in *Oxylipeurus*, seems in this genus to have a specific function, taking the place and serving the same purpose as the paramers during copulation. It is inserted between the claspers of the female and grasped by them, after which the weak genital armature is extruded and inserted along its under surface.

In the species *ovaticephalus* we have a slight divergence from this procedure, in that segment IX of the male has been narrowed and elongated and is apparently inserted within the female claspers, which have been also somewhat modified for this purpose.

The genital armature itself resembles strongly that of *Eiconolipeurus*, except that it is somewhat larger and stronger, with the minute paramers folded across the tip.

The antennae are strongly dimorphic, the enlarged first segment in the male being sometimes with a slight indication of a membranous flap, and sometimes entirely without it. There is also a dimorphism in the shape of the head, the female having the pre-antennal portion considerably longer than in the male, while the post-antennal portion is usually of a somewhat different shape. The trabeculae are very small and scarcely pigmented, so that they are often very difficult to distinguish.

This genus also lacks the clumps of hairs on each side of the tubular process arising from segment VIII, a character prominent in many forms of *Oxylipeurus*, and mentioned as a generic character.

The prothorax is smaller, but similarly shaped to that of *Eiconolipeurus*, while, the pterothorax is longer and more expanded posteriorly, and the pleurites are less complicated in structure.

In addition to the genotype, the genus will contain five other undescribed forms, from *Colinus nigrogularis*, *C. cubanensis*, *C. c. cristatus*, *C. cristatus decoratus*, and *Callipepla s. squamata*. Undoubtably the genus will eventually be taken on all species of *Colinus* and closely related genera, when more light will be thrown on this interesting group of parasites.

Epicolinus clavatus (McGregor)

(Figs. 30-34)

Lipeurus clavatus McGregor, Psyche, Boston, Vol. XXIV, No. 5, p. 115, pl. VII, fig. 3 (♀) (Host: *Colinus virginianus texanus*).

Oxylipeurus clavatus (McGregor), Clay, F.Z.S., Ser. B, vol. 108, part 2, 1938, p. 168, pl. IX, fig. 5 (♂) (Same host).

The species was described and figured by MCGREGOR from a female, while Miss CLAY has published a microphotograph of the male, which reveals few details of structure, especially of the genitalia and tip of the abdomen. The only descriptive remark made by Miss CLAY is: "The male is characterized by the elongated sternal process".

Since the species has been quite fully discussed under the generic description, further remarks seem unnecessary, while the accompanying figures illustrate clearly all characters not previously mentioned or shown in published illustrations.

The species is represented in the author's collection by a single ♂ and 2 ♀♀, which, unfortunately, are not in the best of condition, but nevertheless show clearly the characters discussed above. The specimens were taken on *Colinus v. virginianus*, at Guntersville, Alabama, April 6, 1906.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.73		1.86	
Head. {strabeculae.....	43	{ .24	50	{ .26
Head. {temples.....		{ .266		{ .29
Prothorax.....	.13	.22	.13	.23
Pterothorax.....	.24	.336	.25	.38
Abdomen.....	1.00	—	1.05	.44
Antennae (1st. seg. ♂).....	.11	.075	.195	—
Pre-antennal region.....	.174	—	.227	—
C. I.....	.56 and .62		.52 and .58	

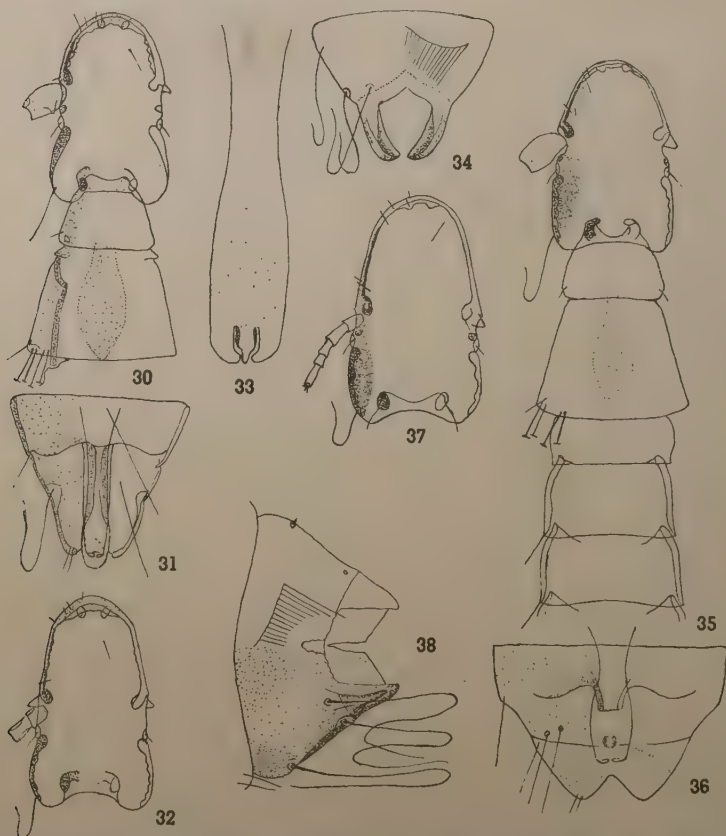
In addition to the material in the author's collection, twelve specimens of both sexes from the U. S. National Museum collection were examined. These specimens were taken from *Colinus virginianus* collected in Maryland, Georgia and Florida and they exhibit little or no variation amongst themselves, except the usual individual variation in size, the range of which is not great.

Epicolinus callipeplus callipeplus n. sp.

(Figs. 35-38)

Types — Male and female adults, from *Callipepla squamata*, collected in Arizona, November, 1884. (Types in coll. Col. Meinertzhagen).

Closey related to *E. clavatus* (McGregor), from *Colinus virginianus*, differing in size and proportions, in the male genitalia, and in the structure of the apical segment of the abdomen in both sexes.



Epicolinus clavatus (McGregor) — Fig. 30: Head and thorax of male; fig. 31: tip of male abdomen; fig. 32: head of female; fig. 33: male genitalia; fig. 34: tip of female abdomen. *Epicolinus callipeplus callipeplus* n. sp. — Fig. 35: Head, thorax and part of abdomen of male; fig. 36: tip of male abdomen; fig. 37: head of female; fig. 38: tip of female abdomen.

The head of the male is parallell-sided, the width at the temples being equal to the width at the trabeculae, while in *clavatus* the width at temples is greater. The body measurements of the male are almost equal to those of *clavatus*, excepting the pterothorax, which is shorter and wider.

The female is slightly larger than the female of *clavatus* in all measurements excepting width of abdomen. The antennae of the male have the first joint less thickened, but of the same length, while in the female the whole segment is considerably longer in *callipeplus* (.24 mm. against .195 mm.).

The genitalia are apparently similar to those of *clavatus*. In the single male available for study the external, tubular process is broken off, so that no comparison of this important character can be made with *clavatus*. The armature itself seems to be intact, in-as-much as it resembles that of *clavatus*, except that the thin, transparent basal plate is wider, longer, and of different shape, being more expanded in the subapical portion, instead of parallel-sided.

In the female the "claspers" at the tip of the abdomen are rigid, point straight backward, and have the space between them partially filled by a thin membrane which extends inward from the inner edges of the claspers, but is divided medially (see figure).

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.78	—	2.06	—
Head. { at trabeculae.....	.43	{ .26	.52	{ .27
{ temples.....		.26		.30
Prothorax.....	.13	.22	.15	.235
Pterothorax.....	.23	.35	.26	.37
Abdomen.....	1.04	.35	1.21	.44
Antennae (1st. seg. ♂).....	.11	.06	.24	—
Pre-antennal region.....	.16	—	.25	—
C. I.....	.60	—	.52 and .58	—

Epicolinus callipeplus yucatanensis n. ssp.

Type — Female adult, from *Colinus nigrogularis*, collected in Yucatan, January, 1899. (Type in Meinertzhagen collection).

The single female representing this form is very close to *E. callipeplus*. It is smaller in most of its measurements, and has the head shorter, but of practically the same width (.466 long by .27 and .29 mm. wide, against .52 long by .27 and .30 mm. wide). Both thoracic segments are also shorter, but of about the same width; the clypeal band is wider around the front, with its inner border crenulated, and the two rounded, chitinous nodules more prominent. The inward extension of pleurites II to V, on their anterior portion, is longer and wider; the abdominal tergites are more widely separated medially (twice the space). The size of the fused segments VIII and IX is almost the same, also the opening between the claspers. The line of fine hairs fringing the posterior edge of the genital plate is angulate medially, not circular. The

male of this species, when taken, will undoubtedly present other distinguishing characters but for the present it seems best to leave it as a subspecies of *callipeplus*.

MEASUREMENTS	FEMALE	
	length	width
Body	1.93	
Head {trabeculae.....	466	/ 27
{temples.....		\ 29
Prothorax.....	.13	22
Pterothorax.....	.24	37
Abdomen.....	1.15	47
Antennae.....	.23	
Pre-antennary area.....	.227	
C. I.	.58 and .62	

Epicolinus cubanus n. sp.

Types — Male and female adults, from *Colinus cubanensis*, collected by S. I. Danforth at Guave, Cuba, July 6, 1933 (types in the U. S. Nat. Museum).

This species is close to *E. callipeplus*, but seems to be specifically distinct, and differs from that form as follows: Male: The sides of the pre-antennary area are more noticeably divergent, while the *frons* itself is slightly pointed medially; the temples are much more convex; the prothorax wider anteriorly; the pterothorax is much shorter and much wider in anterior portion; the combined abdominal segments VIII and IX are wider and longer, while IX is much longer, but of the same width; there are four hairs along each side of the posterior margin of segment VIII, instead of *two*.

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body	1.84		2.02	
Head {at trabeculae.....	44	/ 27	50	/ 28
{at temples.....		\ 29		\ 31
Prothorax.....	15	24	15	24
Pterothorax.....	26	35	28	39
Abdomen.....	1.08	37	1.19	49
Genital tube.....	195			
C. I.	60 and 66		56 and 62	

The female also has the head of similar shape to the male, with slightly pointed front and divergent sides; the trabeculae are larger than those of

the ♂, while in *callipeplus* the reverse is true. Segment VIII is very similar to that of *callipeplus* with the exception of the chaetotaxy (see fig.); the last segment, consisting of the claspers, is longer, with the anterior margin more convex, and the membrane between the claspers of different shape. There are also differences in the comparative size of the various body segments (see table of measurements).

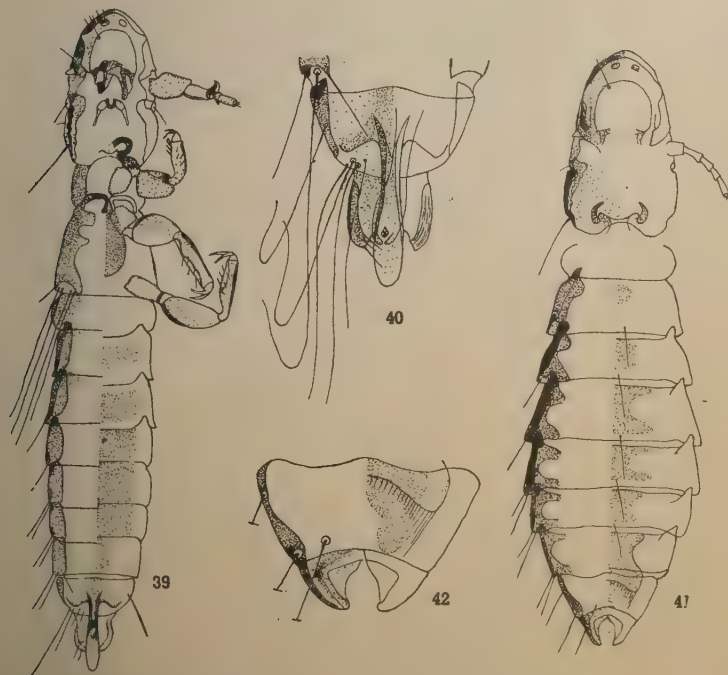
Epicolinus ovaticephalus ovaticephalus n. sp.

(Figs. 39-42)

Types — Male and female adults, from *Colinus cristatus decoratus*, collected by the author at Casacarà, Dept. Magdalena, Colombia, May 18, 1942 (in U. S. Nat. Museum).

Differs from all of the other known species of the genus in the shape of the head, shape of the thorax, and especially in the shape of segments VIII and IX of the abdomen in both sexes.

In the male the head is an almost perfect elongated oval, being narrower than that of *clavatus*, with more pointed front and with the temples contracted posteriorly (not expanded laterally as in *clavatus*, — see fig.). The prothorax is not divergent posteriorly, while, the pterothorax is smaller, less divergent posteriorly, and has the sides somewhat sinuate.



Epicolinus ovaticephalus ovaticephalus n. sp. — Fig. 39: Body of male; fig. 40: tip of male abdomen; fig. 41: body of female; fig. 42: tip of female abdomen.

The most noticeable character in the male (aside from shape of head) is the shape of the last two abdominal segments, especially the last. Segment VIII is short, with slightly convex sides, strongly sinuate anterior margin, and with the convex posterior suture clearly outlined (practically invisible in *clavatus*).

The tubular genital process is much longer than in *clavatus* and extends considerably beyond the tip of the abdomen. Segment IX is almost circular in shape, having the sides of the encised tip seemingly turned upward, forming a sort of groove in which lies the tubular process. The genital armature is very similar to that of both *clavatus* and *callipeplus*, but closer to the former in shape.

The female differs less than the male from the other known species, except in the shape of the head and segment IX of the abdomen. The general shape of the head is like that of *clavatus*, except that the frons is more uniformly rounded, and there is a noticeable depression on the margin of the temples, in which is set the single longish hair.

The antennae are much more slender than in either *clavatus* or *callipeplus*. Segment IX of the abdomen is much wider than in *clavatus*, with claspers short and thick and strongly convex on outer margins, nearer to *clavatus* than to *callipeplus* (see fig.).

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.60		1.84	
Head. { at trabeculae.....	.41	{ .22	.47	{ .25
{ temples.....		.228		.293
Prothorax.....	.12	.185	.12	.24
Pterothorax.....	.22	.26	.25	.37
Abdomen.....	.93	.29	1.08	.456
Antennae (1st. seg. ♂).....	.098	.07	.217	.045
Pre-antennal area.....	.163	—	.217	—
C. I.	.537 and .56		.53 and .624	

Epicolinus ovaticephalus guajirensis n. ssp.

Types — Male and female adults, from *Colinus c. cristatus*, collected by Wetmore and Carriker, at Riohacha, Dept. Magdalena, Colombia, April 4, 1941 (in U. S. Nat. Mus.).

Very close to *ovaticephalus*, both in size and proportions and markings, but differs from the nominate form as follows:

The male is slightly larger and the female smaller, while the head of the female is decidedly shorter (.434 against .47), slightly narrower at trabeculae and considerably narrower at temples. In the male the head is nearly the same in all measurements in the two races.

In the female the prothorax is slightly narrower, and the pterothorax considerably wider at posterior end (.23 x .27 against .25 x .37). The genital tubular process of the male is shorter (.174 x .033 against .195 x .035). The

abdomen in the female is narrower in the median portion, and more slender and more tapering apically.

The structure of segments VIII and IX is very similar in both sexes to the corresponding segments of *ovaticephalus*, although the proportions differ. In the female, segment VIII is much narrower across the anterior end (.189 against .27), and slightly narrower posteriorly, with straight sides. Segment IX is narrower (.119 against .158), the claspers being slender as in *clavatus*, but more pointed apically. The line of setae along the posterior edge of the genital plate in the female is also different (see figure).

MEASUREMENTS	MALE		FEMALE	
	length	width	length	width
Body.....	1.65		1.76	
Head.. {at trabeculae.....	.41	{ .217	.434	{ .23
{temples.....		.239		.245
Prothorax.....	.11	.195	.11	.217
Pterothorax.....	.217	.26	.23	.27
Abdomen.....	.976	.27	1.03	.37
Antennae (1st seg. ♂).....	.108	.062	.217	.03
Pre-antennal area.....	.155	—	.195	—
C. I.....	.52 and .58		.53 and .565	

LIST OF THE HOSTS, WITH THEIR RESPECTIVE PARASITES, TREATED IN THE
PARTS 1 AND 2 OF THIS PAPER

<i>Mitu mitu</i> (Linné)	<i>Oxypleurus rhynchoti</i> (Carriker)
<i>Pautis pauxi gilliardi</i> Wetmore & Phelps	" <i>pauxi</i> Carriker, 1944
<i>Crax alberti</i> Fraser	" <i>craxae craxae</i> Carriker, 1944
" <i>annulata</i> Todd	" " <i>annulatus</i> Carriker, 1944
" <i>rubra rubra</i> Linné (equals: <i>C. globiceras</i> Linné)	" <i>globiceras</i> Carriker, 1944
<i>Penelope purpurascens purpurascens</i> Wagler	" <i>penelope</i> Clay
" " <i>brunnescens</i> Hellmayr & Conover	" <i>sinemammula</i> Carriker, 1944
" <i>montagnii sclateri</i> G. R. Gray	" <i>quinimammula</i> Carriker, 1944
" <i>argyrotis</i> (Bonaparte)	" <i>quadripapula</i> Carriker, 1944
" <i>obscura bridgesi</i> G. R. Gray	" <i>bridgesi</i> Carriker, 1944
<i>Meleagris gallopavo domestica</i>	" <i>p. polytrapezius</i> (Burm.)
" " <i>merriami</i> Nelson	" <i>corpulentus</i> Clay
<i>Agriocharis ocellata</i> (Cuvier)	" <i>ocellatus</i> Clay
	" <i>polytrapezius agriocharis</i> Clay

<i>Oriolus garrula garrula</i> (Humboldt)	<i>Oxylipeurus garrulae</i> Carriker, 1944
" " <i>frantzii</i> Cabanis	" <i>postemarginatus</i> (Carriker)
" " <i>costaricensis</i> G. R. Gray	" <i>costaricensis</i> Carriker, 1944
" <i>guttata guttata</i> (Spix)	" <i>chiñiri variegatus</i> Carriker, 1944
" <i>adpersa</i> (Tschudi)	" " <i>chiñiri</i> Carriker, 1944
" <i>vetula vetula</i> (Wagler)	" " <i>vetulae</i> Carriker, 1944
" <i>motmot ruficeps</i> (Wagler)	" <i>angustifrons</i> Carriker, 1944
" <i>ruficrissa</i> Scl. & Salv.	" <i>tenuicapitis</i> Carriker, 1944
<i>Odontophorus melanotis</i> Gould	<i>Eiconolipeurus melanotis</i> n. sp.
" <i>guttatus</i> (Gould)	" <i>venezuelanus guttatus</i> n. ssp.
" <i>atrifrons</i> Allen	" <i>s. sanctae-martae</i> n. sp.
" " <i>variegatus</i> Todd	" <i>sanctae-martae perijanus</i> n. ssp.
" <i>colombianus</i> (Gould)	" <i>v. venezuelanus</i> n. sp.
" <i>gujanensis gujanensis</i> (Gmelin)	" <i>importunus</i> n. sp.
" " <i>marmoratus</i> (Gould)	" <i>repandus</i> n. sp.
" <i>boliviani</i> Gould	" <i>hamatus</i> n. sp.
" <i>capueira</i> (Spix)	" <i>sinuosus</i> n. sp.
<i>Colinus virginianus texanus</i> (Lawrence)	<i>Epicolinus clavatus</i> (McGregor)
" " <i>cubanensis</i> (G. R. Gray)	" <i>cubanus</i> n. sp.
" <i>nigrogularis</i> (Gould)	" <i>callipeplus yucatanensis</i> n. ssp.
" <i>cristatus cristatus</i> (Linné)	" <i>ovaticephalus guajirensis</i> n. ssp.
" " <i>decoratus</i> (Todd)	" <i>o. ovaticephalus</i> n. sp.
<i>Callipepla squamata squamata</i>	" <i>c. callipeplus</i> n. sp.

SÔBRE A NATUREZA DA FLAVINA DO PLASMA DE ALGUMAS COBRAS ¹

GILBERTO G. VILLELA

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com uma figura no texto)

Em trabalho anterior, estudamos os pigmentos do plasma de algumas cobras brasileiras e demonstramos neste a presença de grande quantidade de uma flavina identificável quimicamente com a riboflavina (1).

Com o fim de verificar se os pigmentos fluorescentes do plasma dessas cobras se comportavam biologicamente como a riboflavina, praticamos dosagens microbiológicas com o teste de SNELL & STRONG (2). Este se baseia na ação estimulante da riboflavina sobre o crescimento do *Lactobacillus casei* quando cultivado em meio de composição definida.

As dosagens foram feitas com o plasma diluído e com os extratos desproteinizados do plasma. Como o sangue pode conter substâncias estimulantes outras que a riboflavina, conforme observaram ECKARDT, GYÖRGYI & JOHNSON (3) fizemos a extração do desproteinizado com o éter de petróleo que retira estas substâncias.

TÉCNICA EMPREGADA

O sangue depois de retirado por decapitação do animal foi colhido em tubos contendo oxalato neutro de potássio em quantidade suficiente para impedir a coagulação (0,3%). As últimas porções do sangue foram recebidas em outro tubo e desprezadas porque coagulavam facilmente e vinham, às vezes, contaminadas com os sucos tissulares. Após a centrifugação, o plasma era separado em tubo de ensaio, diluído com volume igual de água destilada e acidificado com 3 a 4 gotas de ácido acético a 10%. O tubo era então levado ao banho maria fervente onde permanecia 3 a 4 minutos. Depois da coagulação das proteínas, filtrava-se em papel de filtro Whatman N.º 41 e o filtro lavado com água destilada para que o volume ficasse 1:4. Em alguns casos fez-se a diluição 1:10. O ex-

¹ Recebido para publicação a 19 de dezembro de 1944.

trato desproteinizado e limpo, apresentando forte fluorescência esverdeada a luz ultra-violeta, era extraído com eter de petróleo 15 ml. para 10 ml. do filtrado. Centrifugava-se e o líquido isento de eter de petróleo era empregado nas dosagens microbiológicas. Fizemos sempre dosagens fluorométricas no mesmo filtrado de modo a controlar o método.

Sêguimos a técnica proposta por SNELL & STRONG, tendo-se contudo modificado ligeiramente o meio de prova adaptando-o às condições experimentais. O micro-organismo usado foi o *Lactobacillus casei* N.º 7469 fornecido por E. Snell da Universidade de Texas.

As provas foram sempre feitas em comparação com uma dosagem padrão de riboflavina pura. Na fig. 1 acham-se representados dois ensaios com os extratos do plasma em comparação com a curva padrão da riboflavina por nós obtida. Em todos os casos fizemos tubos testemunhas como o plasma e o extrato fotolizado em meio alcalino.

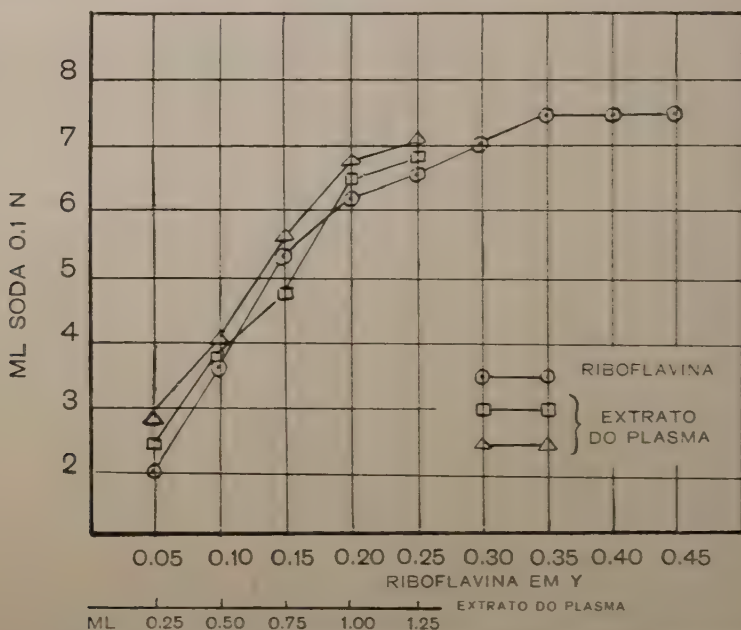


Fig. 1 — Resposta do *L. casei* aos extratos desproteinizados do plasma em comparação com a curva padrão da riboflavina.

A produção de ácido foi dosada pela soda 0.1 N usando-se o azul de bromotimol como indicador. Em alguns casos fizemos também a leitura da densidade ótica num fotolorímetro (Lumetron e Leitz). A adição da riboflavina na quantidade de 0.1 microg. ao extrato nos volumes de 0.1 a 0.25 ml. forneceu boas recuperações como mostram os exemplos abaixo :

QUADRO I

Material	Volume de soda 0,1N em ml
0,1 microg. de riboflavina	5,2
0,25 ml do extrato do plasma.	5,2
0,25 ml do extrato + 0,1 microg. da riboflavina	10,2
0,1 ml do plasma diluido	7,1
0,1 ml do plasma diluido + 0,1 microg. de riboflavina	12,0

Os plasmas estudados eram provenientes de cobras jararaca (*Bothrops jararaca*) e limpa-campo (*Eudryas bifossatus*) que devemos à gentileza dos Drs. J. Ribeiro do Valle e Lauro Travassos, dos Institutos Butantan e Oswaldo Cruz. Serviram para êstes ensaios 10 jararacas e 4 limpa-campo.

A comparação entre os métodos microbiológicos e fluorométrico foi muito satisfatória conforme se depreende do exame do Quadro II. O método fluorométrico usado foi o mesmo que serviu para o nosso trabalho anterior (1).

QUADRO II

Comparação entre os métodos microbiológico e fluorométrico. Valores expressos em microg. de riboflavina para 100 ml de plasma sanguíneo

Método	<i>Bothrops jararaca</i>				<i>Eudryas bifossatus</i>			
Microbiológico	160	212	205	210	191	302	302	290
Fluorométrico	162	210	200	218	190	310	318	288

CONCLUSÕES

O pigmento extraído do plasma sanguíneo das cobras *Bothrops jararaca* e *Eudryas bifossatus*, dotado de intensa fluorescência amarelo-esverdeada, se comporta biologicamente como a riboflavina. As dosagens feitas com o *Lactobacillus casei* pelo método de SNELL & STRONG deram valores concordantes com os obtidos pela dosagem fluorométrica.

SUMMARY

ON THE NATURE OF THE FLAVIN OF THE PLASMA OF SOME BRAZILIAN SNAKES

The yellow-greenish fluorescent pigment extracted from blood plasma of the snakes *Bothrops jararaca* and *Eudryas bifossatus* was biologically identified as riboflavin. The determinations were performed by the microbiological method of SNELL & STRONG and the results obtained were in good agreement with those secured by the fluorometric method.

BIBLIOGRAFIA

- VILLELA, G. G. & PRADO, J. L., 1944, Flavinas do plasma de algumas cobras brasileiras. *Rev. Brasil. Biol.*, 4(4):469-474.
- SNELL, E. E. & STRONG, F. M., 1939, Microbiological assay for riboflavin. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)* 11:346-350.
- ECKARDT, R. E., GYÖRGYI, P. & JOHNSON, L. V., 1941, Presence of a factor in blood which enhances bacterial growth. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 137:363-365.

CONTRIBUIÇÃO AO CONHECIMENTO DOS "ARCTIIDAE". VII. (Lepidoptera, Heterocera) ¹

LAURO TRAVASSOS

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 13 figuras no texto)

Opharus Walker, 1855

Opharus Walker, 1855, 3, p. 728.

Opharus Druce, 1884, p. 101.

Opharus Kirby, 1892, p. 205.

Opharus Druce, 1897, p. 382.

Opharus Hampson, 1901, p. 117, p.p.

Opharus Strand, 1919, 22, p. 54, p.p.

Opharus Seitz, 1922, p. 397, p.p.

Cabeça com palpos dirigidos obliquamente para diante e para cima, tendo o segmento distal tão desenvolvido como os basais. Tromba bem desenvolvida. Antenas plumosas nos dois sexos. Asas alongadas. Nervulação: Asa anterior — Sc terminando pouco adiante da célula; R¹ e R² tendo origem na célula; R³, R⁴ e R⁵ com tronco comum partindo do ângulo anterior da célula; M¹ partindo do ângulo anterior da célula; M² e M³ com curto tronco comum partindo do ângulo posterior da célula; Cub¹ partindo de perto do ângulo da célula; Cub² do início do terço distal da célula; A¹ terminando no tornus. Asa posterior — Sc muito reduzida e tendo origem na porção distal da célula; Rn e M¹ tendo origem no ângulo anterior da célula; M² e M³ com curto tronco comum partindo do ângulo posterior da célula; Cub¹ tendo origem perto do ângulo posterior da célula; Cub² do meio da célula; A¹ terminando adiante do tornus; A² no tornus. Genitalia — 10.º tergito de forma característica e revestido de pilosidade curta, disposta radialmente e inserida em duas saliências em forma de bossas; 10.º esternito não esclerosado; 9.º tergito pouco desenvolvido; 9.º esternito sem formar *saccus*; *valvae* simples e fortes; *transtila* não individualizada; falosoma sub-retilíneo; *vesica* espinhosa; *juxta* anular, simples.

Espécie tipo: *Opharus procroides* Walker, 1855.

O gênero *Opharus* foi estabelecido para uma espécie única. DRUCE (1884) nele incluiu 3 espécies novas além de uma que considerou idên-

¹ Recebido para publicação a 15 de fevereiro de 1945.

tica ao tipo. KIRBY (1892) aumentou o número de espécies para dez. DRUCE, em 1897, descreve mais 4. HAMPSON (1901) considerou como sinônimos de *Opharus* os gêneros seguintes: *Phegoptera* H. Schaef-fer, 1855, *Carales* Walker, 1855, *Pitheia* Walker, 1856 e *Senia* Moeschler, 1877. STRAND e SEITZ seguiram a orientação de HAMPSON.

O número de espécies referidas por HAMPSON para o gênero *Opharus* foi de 29 em 1901, aumentadas de mais 13 em 1920, isto é, 42 espécies. STRAND (1919) e SEITZ (1922) referem 45 sem contar as sub espécies.

Discutiremos a seguir os sinônimos considerados por HAMPSON. O estudo do tipo de *Carales* (*albicans* Walker, 1855 = *astur* Cramer, 1777) demonstrou não haver razão para identificar os dois gêneros. De *Pitheia* não conseguimos examinar exemplares do genótipo mas julgamos mais prudente conservá-lo afastado de *Opharus* até que possa ser reestudado. Quanto a *Senia* Moeschler, 1877 é um sinônimo absoluto de *Carales* pois a única espécie a ele referida originalmente foi *astur* Cramer, 1777.

O caso de *Phegoptera* estudaremos mais adiante.

Diversas espécies incluídas no gênero *Opharus* de que examinamos a genitália não eram co-genéricas de *procroides*.

Opharus procroides Walker, 1855

- Opharus procroides* Walker, 1855, 3, p. 729, nec Druce, 1884.
Opharus procroides Dognin, 1891, p. 30.²
Opharus procroides Kirby, 1892, p. 205.
Opharus procroides Hampson, 1901, pp. 117, 120, fig. 83.
Opharus procroides Rothschild, 1910, p. 48.
Opharus procroides Strand, 1919, 22, p. 58.
Opharus procroides Seitz, 1922, p. 398, est. 56 g.

Macho — Côr geral pardo escura. Cabeça com palpos dirigidos obliquamente para diante e para cima, com o articulo distal tão desenvolvido como os proximais. São de coloração pardo escuro tendo, em alguns exemplares, a extremidade distal do articulo apical ligeiramente mais clara. Tromba bem desenvolvida de côr amarela. Fronte parda, guarneçada de longas escamas filiformes que convergem para a linha mediana. Vértice revestido de longas escamas pardo-escuras e outras menores, situadas entre as primeiras e com reflexos verde-metálico. Estas escamas brilhantes são mais numerosas nas partes laterais do vértice. Antenas pardo-escuras tendo o segmento basal revestido de escamas pardas com reflexo verde-metálico. Cada segmento da antena apresenta um par de apófises laterais longas cujo comprimento diminue progressivamente nos terços proximal e terminal. Tórax dorsalmente pardo-escuro. Patágia pardo-escura com reflexos verde-metálico. Tégula pardo-escura com reflexos verde-metálico na porção cranial. Região adiante da inserção da asa anterior com vivos reflexos verde-metálicos. Pleuras pardo-escuras. Pernas uniformemente pardo-escuras. Par anterior com epífise pouco mais longa que metade da tibia. Tibias médias com um par de espinhos apicais dos quais os

² Não consultado.

externos são pouco mais curtos. Tibias posteriores com um par de espinhos sub-apicais e um par apical, sendo os externos mais curtos. Asa anterior alongada e estreita; apresenta, nas duas faces, coloração pardo-escura com estrias de cor mais escura ao longo das nervuras. Na base da face superior existem



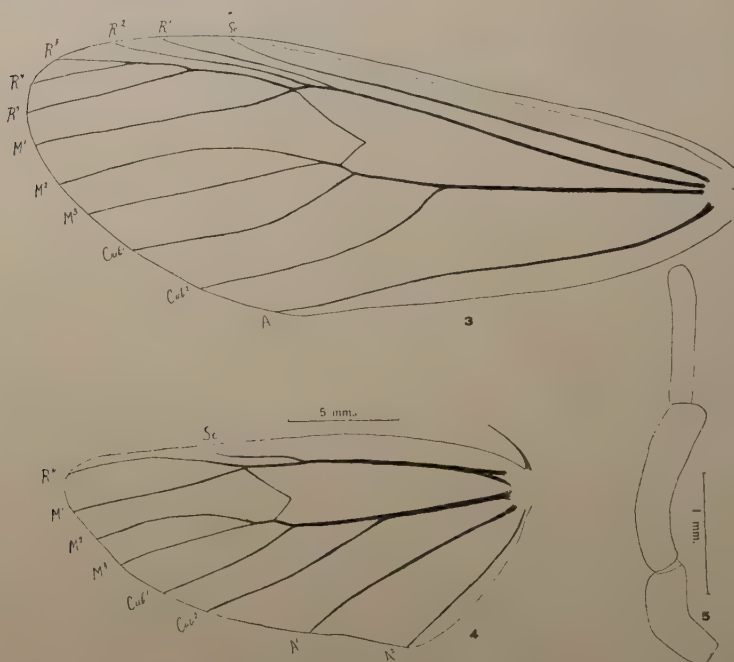
Fig. 1 — *Opharus procroides* Walker, 1855; foto do macho 17.973, capturado em cópula com o exemplar da fig. 2. J. Pinto fot.

gada e estreita; apresenta, nas duas faces, coloração pardo-escura com estrias de cor mais escura ao longo das nervuras. Na base da face superior existem



Fig. 2 — *Opharus procroides* Walker, 1855; foto da fêmea 17.974 (o abdômen ficou no exemplar da fig. 1). J. Pinto fot.

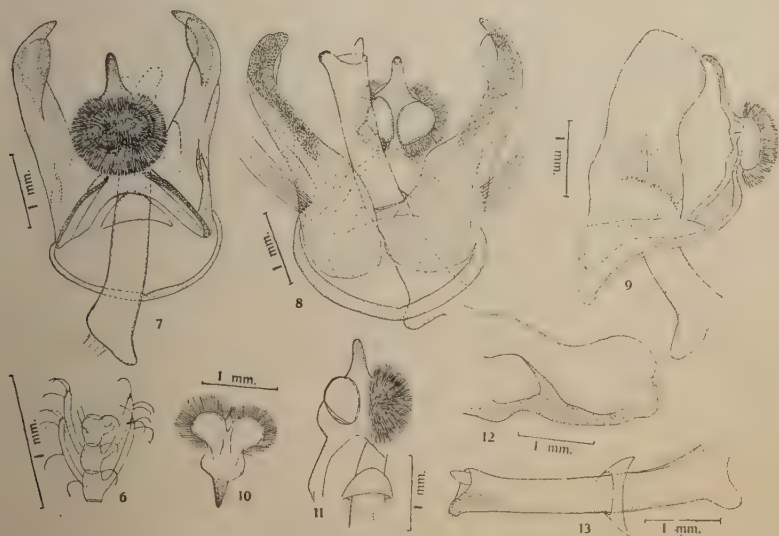
escamas com reflexos verde-metálico. Asa posterior alongada, com a coloração das anteriores tendo a região proximal mais clara. Nervulação: Asa anterior — Sc terminando antes da origem de R^1 ; R^1 e R^2 tendo origem na parte distal do ângulo posterior da célula; Cub^2 partindo do início do terço distal da célula; R^3 terminando adiante do ápice da asa, R^1 no ápice e R^2 logo atrás do ápice da asa; M^1 partindo do ângulo anterior da célula; M^2 e M^3 com curto tronco comum partindo do ângulo posterior da célula; Cub^1 tendo origem perto do ângulo posterior da célula; Cub^2 partindo do início do terço distal da célula; disco-celular formando ângulo agudo sendo o ramo anterior 3 vezes mais longo que o posterior; A terminando no tornus. Asa posterior — Sc muito reduzida e se destacando do tronco radial na parte distal da célula; Rn e M^1 partindo do ângulo anterior da célula, R^1 termina no ápice da asa, M^1 logo atrás do ápice; M^2 e M^3 com curto tronco partindo do ângulo posterior da célula; Cub^1 tendo origem perto do ângulo posterior da célula; Cub^2 do meio da célula; A^1 terminando adiante do tornus; A^2 no tornus; disco celular formando ângulo reto, sendo o ramo anterior duas vezes mais longo que o posterior. Asa anterior mede de 21 a 21,5 mm. por 8 a 8,5 mm. de maior largura. Relação 2,5. Asa posterior mede 13 a 14 mm. de comprimento por 7 a 7,5 de maior largura. Relação 1,8.



Opharus procroides Walker, 1855 — Fig. 3: Nervulação da asa anterior; fig. 4: nervulação da asa posterior; fig. 5: palpo. Todas as figuras desenhadas do exemplar 17.926.

Abdômen pardo-escuro na face dorsal tendo os 4 segmentos basais revestidos de longos pêlos pardos. Do 5.º ao 8.º segmentos a parte escura se reduz a uma faixa mediana que se alonga nas extremidades apicais dos segmentos em

fino anel. Lateralmente existem manchas amarelo ocre do 2.^o ao 8.^o segmentos. Estas manchas são separadas por estreitas linhas pardas apicais. Do 5.^o ao 8.^o segmentos as manchas laterais invadem a face dorsal, reduzindo a parte escura desta face a uma faixa mediana. Genitália — 10.^o tergito constituído por uma parte basal larga e um prolongamento delgado. A porção dilatada apresenta duas saliências em forma de bossas onde se inserem curtos pêlos erectos simulando uma cabeleira hirsuta. O conjunto do 10.^o tergito tem uma grande semelhança com a cabeça de um embrião de ave. 10.^o esternito não esclerosado. 9.^o tergito pouco desenvolvido e estreito. 9.^o esternito delgado e sem formar *saccus*. Valvae largas e fortemente esclerosadas. São escavadas na face interna tendo o bordo dorsal saliente na extremidade distal e o ventral espesso. No terço proximal da face externa apresenta uma fileira transversal de longos pêlos. *Transtila* não individualisada. Falosoma simples, sub-retilíneo e com uma pequena saliência lateral na extremidade proximal. *Vesica* espinhosa. *Juxta* pouco esclerosada e constituída por uma placa triangular, atravessada pelo falosoma.



Opharus procroides Walker, 1855 — Fig. 6: Parte média da antena (exemplar 17.326); fig. 7: genitália, vista dorsal; fig. 8: genitália, vista ventral; fig. 9: genitália, vista lateral; fig. 10: 10.^o tergito, vista posterior; fig. 11: 10.^o tergito com os pêlos da metade direita retrairados, vendo-se também a *juxta* (exemplar 17.426); fig. 12: valva, vista interna; fig. 13: falosoma (Figs. 7-10, 12, 13 desenhadas do exemplar 17.411).

Fêmea — Exatamente da coloração do macho. As antenas apresentam apófises pouco menos longas que nos machos. Asas anteriores medindo 24 a 25,5 mm. por 9,5 a 10 mm. Relação 2,5. Asas posteriores 16 a 17 mm. por 9 mm Relação 1,7 a 1,8.

Tipo no Museu Britânico, proveniente do Brasil.

Distribuição geográfica: Brasil, Bolívia, Perú, Equador, Venezuela e Panamá.

Desta espécie, cujas fêmeas são mais frequentes que os machos, examinamos o seguinte material: 12.325 a 12.327 Petrópolis (Independência), Est. do

Rio, Travassos col. 9-932 : 12.328 Angra dos Reis (Japuiba), Est. do Rio, Travassos col. 1-932 : 12.329 Represa do Camorim, Distrito Federal, Travassos col. 1-933 : 12.330 e 12.331 Serra de Santos, São Paulo, Travassos col. 8-932 : 12.634 a 12.636 Itatiaia, Est. do Rio, Travassos & H. S. Lopes col. 9-933 : 12.644 Itatiaia, Est. do Rio, Zikan col. 5-928 : 12.645 Itatiaia, Est. do Rio, Travassos & H. S. Lopes col. 12-933 : 13.200 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 7-934 : 13.201 Angra dos Reis (Japuiba), Est. do Rio, Travassos col. 6-934 : 13.202 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 7-934 : 13.305 e 13.306 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos, d'Almeida & Penido col. 4-934 : 17.256 Represa do Camorim, Distrito Federal, Travassos col. 1-933 : 17.411-17.412 Juquia (Poço Grande), São Paulo C.D.Z. col. 10-940 : 17.950 Corcovado, Distrito Federal, Travassos col. 1-933 : 17.965-17.966 Campos do Jordão (Lefèvre, 1.200 m.), São Paulo, Travassos F. & N. Santos col. 1-938 : 17.967-17.968 Teresópolis (Soberbo, 1.000 m.), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 10-937 : 17.969 Teresópolis (Soberbo, 1.000 m.), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 12-939 : 17.970-17.971 Teresópolis (Soberbo, 1.000 m.), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 1-939 : 17.972 Teresópolis (Soberbo, 1.000 m.), Est. do Rio, Travassos, Oiticica F. & Costa col. 9-939 : 17.973-17.976 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos, H. S. Lopes & Oiticica F. col. 10-934 : 17.977 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 9-934 : 17.978 Itatiaia, Est. do Rio, Travassos & H. S. Lopes col. 9-932 : 17.979 Itatiaia, Est. do Rio, Travassos & H. S. Lopes col. 12-933 : 17.980-17.981 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 7-934 : 17.982 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 2-935 : 17.983 Petrópolis (Independência), Est. do Rio, Travassos col. 10-932 : 17.984 Petrópolis (Independência), Est. do Rio, Travassos col. 9-932 : 17.985 Petrópolis (Independência), Est. do Rio, Vasconcellos col. 3-934 : 17.986 Petrópolis (Serra), Est. do Rio, Parko col. 8-940 : 17.987 Ipiranga, São Paulo, Spitz col. 4-934 : 17.988 Jaraguá, Sta. Catarina, Hoffmann col. 1-934 : 17.989-17.992 Juquia (Poço Grande), São Paulo, C.D.Z. col. 10-940 : 17.993 Ouro Preto, Minas Gerais, Livio Renaut col. 4-943 : 17.994-17.997 Angra dos Reis (Jussara), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 9-935 : 17.998 Teresópolis (Soberbo, 1.000 m.), Est. do Rio, Travassos & Oiticica F. col. 1-939 : 17.999-18.000 Campos do Jordão (Lefèvre, 1.200 m.), São Paulo, Travassos, Oiticica F. & Travassos F. col. 12-937

Phegoptera Boisduval in H. Schaeffer, 1855

Phegoptera Boisduval in H. Schaeffer, 1855, p. 16.

Halesidota Walker, 1855, 3, p. 732.

Phaegoptera H. Schaeffer, 1858, p. 78.

Phegoptera H. Schaeffer, 1858, p. 81, 83, 84.

Phaegoptera Druce, 1884, p. 94.

Phegoptera Kirby, 1892, p. 212 (tipo *histrionica*).

Opharus Hampson, 1901, p. 117, p.p.

Opharus Strand, 1919, p. 54, p.p.

Opharus Seitz, 1922, p. 392, p.p.²

H. SCHAEFFER (1855, p. 16) quando, pela primeira vez, referiu *Phegoptera* incluiu as espécies representadas nas figuras 61-68, 283-294, 342, 528 e ainda *mauritica* Cr. 345 B. *melanthus* Cr. 286 B. *vidua* Cr.,

SEITZ refere *erytronota* como a primeira espécie citada para *Phegoptera*, que atualmente é incluída entre os *Automolis*, sensu Hampson. Esta espécie não entra em cogitação na discussão do gênero por não ter sido referida à pág. 16. Na pág. 72, H. SCHAEFFER a denomina de *Trichomys erytronota* fig. 58 e somente à pág. 78 a denomina *Phaegoptera erytronota*.

helops Cr., *umber* Cr. 15 F., *tessellaris* H. Z. 939, *astur* Cr., *hermia* Cr., *ilus* Cr. e com dúvidas *sybaris* Cr. (*credula* H. Samml.).

Como nos fez sentir o nosso prezado amigo R. FERREIRA D'ALMEIDA as espécies a cujas figuras se referiu H. SCHAEFFER somente foram denominadas em 1858 e dêste modo não podem servir para genótipo. A indicação feita por KIRBY (1892, p. 212) de *histrionica* (H. Schaeffer, 1858, fig. 68) não pode prevalecer. O verdadeiro tipo só poderá ser escolhido entre as 9 primeiras referidas acima visto a última — *sybaris* — ser incluída na lista com dúvida.

O segundo autor que se ocupou do gênero foi WALKER (1855) antes mesmo da publicação dos nomes das espécies referidas por H. SCHAEFFER somente pelos números das figuras. Êste autor considerou *Phegoptera* como sinônimo de *Halisidota* Huebner.

KIRBY (1892) manteve o gênero de H. SCHAEFFER e grafou *Phaeoptera* tendo designado um pseudo tipo — *histrionica* — como vimos atrás. Fez igualmente uma subfamília *Phaeopterinae* (p. 194).

HAMPSON (1901), não obstante não considerar válido o nome publicado por H. SCHAEFFER, o inclue como sinônimo de *Opharus* Walker, 1855. Êste autor grafou *Phegoptera* e atribue a data de 1850. Os autores subsequentes seguiram a orientação de HAMPSON.

Pela lista das espécies incluídas inicialmente no gênero vê-se que quase todas já foram escolhidas como tipos de outros gêneros ou representam espécies de grupo diverso de *Lepidoptera* ou são espécies mal conhecidas. Para não aumentar as dificuldades relativas à validade dêste gênero resolvemos aceitar o critério de WALKER (1855) que o considerou sinônimo de *Halisidota* Huebner, 1819. Assim, escolhemos *N. tessellaris* Abbot & Smith, 1797 para tipo de *Phegoptera*.

O discutido gênero de Boisduval *in* H. Schaeffer fica sendo sinônimo absoluto de *Halisidota* Huebner, 1819. A subfamília *Phaeopterinae* Kirby, 1892 desaparece.

Julgamos que assim procedendo evitamos uma maior confusão na nomenclatura.

SUR UNE ATTAQUE DE CONVULSIONS GÉNÉRALISÉES PRODUITE PAR LE RÉCHAUFFEMENT BRUSQUE DES GRENOUILLES PRÉALABLEMENT REFROIDIES ¹

MIGUEL OZORIO DE ALMEIDA, H. MOUSSATCHÉ et M. VIANNA DIAS

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

Au cours de nos recherches systématiques sur la cryoépilepsie, nous avons souvent observé que la moelle isolée placée, après le refroidissement qui produit l'attaque, dans un bain de solution de Ringer à la température du laboratoire, peut donner une nouvelle série de décharges. Cette attaque par réchauffement de la moelle isolée n'est pas un phénomène constant et nous étudierons plus tard les conditions dans lesquelles il se produit. Cette observation nous a amené, cependant, à chercher les effets du réchauffement rapide de grenouilles préalablement refroidies. Nous avons pu trouver les conditions dans lesquelles on obtient, presque toujours, une attaque convulsive qui peut atteindre une extrême violence. Nous exposerons dans ce mémoire les premiers résultats obtenus dans l'étude de cette nouvelle forme d'attaque convulsive qui constitue, pour ainsi dire, la contre-partie de l'attaque par le refroidissement brusque des centres nerveux. Ces résultats soulèvent de nombreux problèmes actuellement à l'étude dans notre laboratoire.

Comme pour le cas de la cryoépilepsie, il y a, sans doute, des différences marquées dans la forme et l'intensité des réactions suivant l'espèce de Batraciens étudiée et aussi suivant le climat de la région où habitent les animaux. Il est bien possible que les conditions de production du phénomène dans les pays tempérés et froids de l'Europe et de l'Amérique du Nord soient assez différentes de celles que nous décrirons ici pour le cas du *Leptodactylus ocellatus*. Ce qui y a d'intéressant c'est que, à notre connaissance, le phénomène ne fut pas observé par les physiologistes américains ou européens. TARCHANOFF & FREUSBERG ont constaté que l'application de morceaux de glace sur le

¹ Recu le 29 Decembre 1944.

dos de la grenouille donne lieu à l'augmentation et l'exagération des réflexes médullaires. BIEDERMANN (1) a montré que les grenouilles spinales maintenues dans la glace toute une journée réagissent par des contractions toniques prolongées à des excitations très faibles. Tout en étudiant les caractères de l'inhibition, de la sommation des excitations, BIEDERMANN fut frappé par l'augmentation de l'excitabilité de la moelle quand, après un refroidissement prolongé, on la réchauffe rapidement. Mais il ne semble pas que cette augmentation de l'excitabilité ait été suffisante pour arriver à donner de véritables attaques convulsives.²

Technique — Les animaux, qui sont pesés avant l'expérience, sont placés dans un flacon cylindrique en verre de 5 litres environ, contenant de l'eau et de la glace. Il convient de vider préalablement les poumons de l'air qu'ils peuvent contenir, en empêchant ensuite que la grenouille vienne respirer à la surface. Après un séjour variable dans l'eau glacée, la grenouille est rapidement transportée dans un flacon semblable au premier contenant de l'eau à une température qui peut aller de 30° à 37° C. On note la température de la couche d'eau au fond du premier flacon où se trouve la grenouille pendant le refroidissement.

Description de l'attaque — La grenouille placée dans l'eau glacée s'agite, cherche à s'enfuir et petit à petit tombe dans un état d'inertie de plus en plus complète. Aux premiers mouvements très vifs succèdent des mouvements lents et difficiles. L'animal finit par être anesthésié par le froid, à une température de 2° à 4° C. À un certain moment il présente une contraction tonique généralisée, qui représente tout simplement l'attaque de cryoépilepsie (2).

Quand au bout d'un temps suffisant (20 à 30 minutes),³ on retire l'animal du bain froid et on le place dans le bain chaud, on observe immédiatement dans la majorité des cas, des tremblements dans le plancher buccal, dans les muscles de la paroi ventrale, dans les muscles des cuisses, dans les doigts. Ces tremblements augmentent rapidement d'intensité, deviennent très vite des contractions cloniques, qui se généralisent. L'animal, flottant verticalement dans l'eau, donne l'impression d'exécuter une danse étrange, dans laquelle toutes les parties du corps sont secouées suivant un rythme accéléré. Les muscles des paupières prennent part à cette danse. Les contractions cloniques, par leur augmentation de fréquence, passent à des contractions soutenues. Les

² Nous n'avons pas pu consulter le mémoire original de BIEDERMANN. Nous avons lu le résumé assez développé fait par O. ZORN dans le *Centralblatt für Physiologie*, 1901, 14:245-247.

³ Nous exposerons dans un travail ultérieur les limites inférieure et supérieure du temps de refroidissement nécessaire pour que l'attaque se produise. Ces limites dépendent de toute une série de facteurs dont l'étude fait maintenant l'objet de recherches systématiques.

muscles du corps pressent sur les viscères et, s'il y a encore de l'air dans les poumons, il s'échappe sous la forme de bulles qui sortent par la bouche. Les extenseurs des pattes soulèvent l'animal qui, dans le bain, reste debout sur l'extrémité des doigts. Les membres antérieurs sont fortement étendus en avant. Le dos est bombé. Cette période peut durer jusqu'à 1 ou 2 minutes. Ensuite, les muscles se relâchent, l'animal revient à une position plus normale, tout en gardant une hyperexcitabilité très marquée. Il suffit, par exemple, qu'on frappe un coup sur la table pour qu'il bondisse. Immédiatement après l'attaque les contractions réflexes qu'on obtient sont remarquables par leur caractère saccadé. A un moment donné, l'animal se réveille. Il cherche à remonter à la surface pour respirer. Les mouvements volontaires reviennent et, si on le retire de l'eau, il est parfois un peu déprimé et d'autres fois dans un état apparemment normal.

Quand l'animal est réveillé et on le retire du bain chaud, on peut facilement constater que sa température est encore très au-dessous de la température à laquelle il fut soumis. Un thermomètre placé dans l'oesophage montre que le plus souvent la température centrale se trouve aux environs de 20° C. L'animal n'a pas le temps de prendre la température du bain chaud. Les phénomènes observés sont sûrement dus au changement brusque de la température.

Quelques grenouilles meurent une ou deux heures après l'expérience, mais, en général, elles survivent et présentent un aspect qui ne les distingue en rien des normales. Elles peuvent servir à d'autres expériences et on peut répéter l'attaque par réchauffement, qui se reproduit d'une manière semblable à la première. Dans quelques cas elles peuvent rester déprimées pendant quelques jours.

Effets de la destruction partielle ou totale du système nerveux central.— Les grenouilles chez lesquelles on a opéré la destruction totale du système nerveux central, ne réagissent pas aux changements brusques de température qui produisent les attaques ci-dessus décrites. La destruction du système nerveux fut toujours pratiquée par l'introduction d'une épingle dans le canal vertébral et dans le crâne, à travers l'articulation cranio-vertébrale. Il s'agit donc bien de réactions des centres nerveux et on peut écarter l'hypothèse de phénomènes se passant dans les nerfs périphériques ou dans les muscles. Dans toutes ces expériences, après les résultats négatifs, on a constaté que le cœur battait normalement ; les animaux étaient bien vivants.

Dans d'autres séries d'expériences nous avons détruit une partie du système nerveux central, en laissant les autres parties intactes. D'une manière générale, on doit remarquer que des lésions même limitées des centres nerveux peuvent inhiber l'attaque dans les parties con-

servées. Il faut donc multiplier les expériences avant d'accepter un résultat négatif.

Quand on détruit tout l'encéphale en laissant intacte toute la moelle épinière, l'attaque se produit, mais évidemment bornée aux quatre membres, sans aucune participation du plancher buccal, des yeux ou des muscles de la tête. Quand, au contraire, tout en laissant l'encéphale intact, on détruit la moelle épinière, dans bon nombre de cas, on n'a aucune réaction. Dans quelques cas, cependant, on observe une véritable attaque dans les régions dont l'innervation fut conservée, surtout le plancher buccal et les yeux. Dans nos expériences positives, l'attaque a commencé ou presque immédiatement après l'action du bain chaud, ou alors après une période latente de 3 minutes environ. Chez les grenouilles intactes aussi ce n'est pas toujours que l'attaque commence immédiatement : on peut trouver des cas où on trouve une période latente de 2 ou 3 minutes.

Nous avons étudié l'effet des sections transversales de la moelle faites à différents niveaux. Nous avons employé dans tous ces cas, la méthode de la section faite par la pince de Baglioni, en déterminant soigneusement, après l'expérience, le point où la moelle a été écrasée. Dans le plus grand nombre des expériences de ce genre, la section de la moelle fut pratiquée au niveau de l'articulation cranio-vertébrale. La lésion n'empêche pas la production de l'attaque qui peut être complète, c'est-à-dire, se traduire par des convulsions généralisées des muscles des membres et de la tête. Cependant, le nombre de cas négatifs, ou alors des cas où l'attaque est réduite et bornée à quelques secousses vite disparues est beaucoup plus grand que quand on travaille avec des grenouilles intactes. Quand la section de la moelle est faite à un niveau différent on observe aussi que souvent il n'y a aucune réaction. Dans plusieurs cas, l'attaque se produit assez forte dans les régions dont l'innervation centrale est restée intacte. Le protocole d'expérience suivant donnera une idée exacte du phénomène.

Le 21 Novembre 1944 : *Leptodactylus ocellatus*. Section de la moelle par la pince de Baglioni au niveau de la troisième vertèbre (on a constaté à l'autopsie que le corps de la vertèbre a été en partie écrasé). Après l'opération l'animal était paraplégique et les mouvements réflexes des membres postérieurs se faisaient vivement avec les caractères classiques des réflexes de la grenouille spinale. Les mouvements volontaires des membres antérieurs étaient très réduits. Les mouvements respiratoires et les mouvements de la tête étaient normaux. L'animal fut placé dans un bain d'eau à la température de 2 à 3° C. ; il y est resté 30 minutes. Après ce temps on l'a lancé dans le bain à 37° C. Quelques secondes après, l'accès convulsif a commencé avec les caractères habituels, dans les membres postérieurs, le plancher buccal, les yeux ; les membres antérieurs dont les mouvements volontaires étaient presque abolis, n'ont rien eu. On a retiré la grenouille du bain chaud et quelques minutes après les mouvements

réflexes des membres postérieurs étaient rétablis, ainsi que les mouvements respiratoires et les mouvements de la tête.

De l'ensemble des expériences on peut conclure que les différentes régions du système nerveux central peuvent donner des attaques indépendantes et, en outre, que l'attaque est inhibée ou réduite dans des proportions variables par des lésions plus ou moins proches de la région considérée.

Effets de la destruction unilatérale ou bilatérale des labyrinthes de l'oreille interne — Les excitations parties du labyrinthe exercent une action de facilitation ou d'inhibition sur l'attaque de cryoépilepsie (3). Dans la forme d'attaque que nous étudions maintenant la grenouille flotte dans l'eau et les mouvements eux-mêmes qu'elle présente pourraient être le point de départ de réflexes labyrinthiques. Nous avons fait quelques expériences en prenant des grenouilles ayant subi préalablement la destruction unilatérale ou bilatérale des labyrinthes.

Ni l'une ni l'autre de ces opérations n'empêche l'attaque qui peut se montrer même avec une grande intensité, en conservant tous ses caractères. Mais le nombre de cas négatif, quoique les expériences n'aient été très nombreuses, nous a semblé plus considérable que dans le cas des grenouilles normales. Le point à retenir c'est essentiellement que la suppression des labyrinthes n'empêche pas l'attaque par réchauffement. Une étude plus approfondie ne pourra être faite que sur les préparations de système nerveux isolé.

Influence de la section des racines postérieures — Chez quelques grenouilles, nous avons opéré la section unilatérale des trois dernières racines postérieures, desquelles dépend l'innervation sensitive des membres postérieurs. Chez d'autres, nous avons fait la section bilatérale des mêmes racines. Dans quelques cas, ces opérations furent faites l'animal étant anesthésié par l'éther, suivant la technique antérieurement décrite (4).

Chez les grenouilles privées d'innervation sensitive des deux membres postérieurs, l'attaque par réchauffement s'est produite avec les caractères habituels. Même dans les pattes postérieures les contractions cloniques ont commencé aussitôt que l'animal retiré du bain froid fut plongé dans le bain chaud. On doit remarquer, cependant, que, après la période de secousses cloniques, les membres postérieurs ont présenté la phase de contraction tonique soutenue et prolongée, ce qui pourrait paraître surprenant étant donnée la suppression de l'innervation sensitive. On a pu remarquer aussi que cette période tonique n'a pas gardé le caractère de symétrie que l'on observe chez les grenouilles normales : les convulsions d'une patte peuvent précéder celles de l'autre. Dans un cas les convulsions des membres postérieurs ne furent pas aussi intenses que celles des membres antérieurs et des muscles de la tête.

Dans les expériences faites avec des grenouilles dont les racines postérieures furent coupées d'un seul côté, on a remarqué que les convulsions de la patte du côté opéré viennent plus tardivement et sont moins fortes que celles de la patte dont l'innervation est intacte.

Influence de l'ablation de la peau — Nous avons fait six expériences avec des grenouilles chez lesquelles on avait, 10 ou 15 minutes avant le refroidissement initial, éliminé toute la peau. Chez quatre de ces grenouilles l'attaque ne s'est pas produite. Tout au plus il y a eu dans deux cas des contractions cloniques du plancher buccal et des muscles oculaires, avec quelques secousses des doigts des mains. Aucun mouvement dans les muscles des bras ni dans les membres postérieurs. Chez les deux autres grenouilles il y a eu des contractions cloniques généralisées qui formaient une attaque de faible intensité. L'ablation de la peau réduit donc l'intensité et l'extension de l'attaque, mais ne l'empêche pas totalement. Dans toutes ces expériences les grenouilles furent plongées dans une solution de NaCl à 7 p. 1000.

RESUMÉ

1. Le *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro soumis à l'action d'un bain froid (2 à 4° C.) pendant 20 à 30 minutes et ensuite brusquement plongés dans un bain chaud (30° à 37°) présente une attaque épileptiforme très intense, dont la description détaillée se trouve dans le texte de ce mémoire.

2. La destruction totale du système nerveux central empêche la production de l'attaque. Les destructions partielles abolissent les convulsions dans les parties innervées par les régions détruites; les régions conservées donnent des décharges qui produisent des convulsions dans les muscles qui en dépendent. Les lésions peuvent, en outre, avoir une influence inhibitrice sur les convulsions dépendant d'autres régions du système nerveux restées intactes.

3. La destruction uni- ou bi-latérale des labyrinthes n'empêche pas la production de l'attaque: on observe, cependant, un certain nombre de cas négatifs.

4. L'ablation totale de la peau réduit l'intensité et l'extension de l'attaque, mais ne l'empêche pas totalement. Le nombre de cas entièrement négatifs, c'est-à-dire dans lesquels il n'y a pas eu d'attaque est considérable.

5. La section des racines postérieures correspondantes aux pattes postérieures n'empêche pas que les muscles de ces pattes prennent part à l'attaque. Les convulsions observées sont cloniques et toniques. Chez les grenouilles qui ont subi la section unilatérale des racines postérieures, les convulsions sont plus faibles et plus tardives du côté opéré.

RESUMO

1. O *Leptodactylus ocellatus* das cercanias do Rio de Janeiro submetido à ação de um banho frio (2 a 4° C.) durante 20 a 30 minutos e em seguida bruscamente mergulhado em um banho quente (30 a 37°), apresenta um ataque epiléptiforme muito intenso, cuja descrição minuciosa se encontra no texto desta memória.

2. A destruição total do sistema nervoso central impede a produção do ataque. As destruições parciais eliminam as convulsões nas partes inervadas pelas regiões destruídas; as regiões conservadas dão descargas que produzem convulsões nos músculos que delas dependem. As lesões podem ter além disso uma influência inibidora sobre as convulsões dependentes de outras regiões do sistema nervoso mantidas intactas.

3. A destruição uni- ou bi-lateral dos labirintos não impede a produção do ataque; observam-se entretanto, em certo número, os casos negativos.

4. A ablação total da pele reduz a intensidade e a extensão do ataque, mas não o impede totalmente. O número de casos inteiramente negativos, isto é, nos quais não há ataque, é considerável.

5. A secção das raízes posteriores correspondentes às patas posteriores não impede que os músculos dessas patas tomem parte no ataque. As convulsões observadas são tônicas e clônicas. Nas rãs que sofreram a secção unilateral das raízes posteriores, as convulsões são mais fracas e mais tardias do lado operado.

BIBLIOGRAPHIE

1. BIEDERMANN, W., 1900. Beiträge zur Kenntnis der Reflexfunktion des Rückenmarkes. *Pflüger's Arch. Ges. Physiol.*, 80:408.
2. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1944, Sur l'attaque de cryoépilepsie produite chez la grenouille entière. *Rev. Brasil. Biol.*, 4:313-317.
3. OZORIO DE ALMEIDA, M., MOUSSATCHÉ, H. & VIANNA DIAS, M., 1941, Recherches sur l'attaque épileptiforme produite par le refroidissement brusque de la moelle épinière (cryoépilepsie). Mémoire troisième. Étude de l'influence de quelques facteurs sur les caractères du phénomène chez le *Leptodactylus ocellatus* des environs de Rio de Janeiro. *Rev. Brasil. Biol.*, 1:393-407.
4. OZORIO DE ALMEIDA, M. & FIALHO, B., 1923. Sur l'anesthésie des grenouilles. *C. R. Soc. Biol., Paris*, 89:1258-1259.

NOVA ESPÉCIE DE “ZELURUS (OPISTHACIDIUS)” DA AMAZÔNIA (Reduviidae, Hemiptera) ¹

HERMAN LENT

e

PETR WYGODZINSKY

Instituto Oswaldo Cruz,
Rio de Janeiro, D. F.

Instituto de Experimentação e Ecologia
Agrícola, Rio de Janeiro, D. F.

(Com 6 figuras no texto)

Graças a gentileza dos nossos colegas do Museu Nacional do Rio de Janeiro pudemos examinar um exemplar de uma nova espécie de *Zelurus* (*Opisthacidius*), cuja descrição apresentamos a seguir, dedicando-a a seu colecionador, o Sr. A. Parko. Preferimos dar ao conhecido gênero *Spiniger* o nome mais antigo de *Zelurus*, considerando a prioridade que COSTA LIMA estabelece de modo nítido em sua revisão, para permanecermos fiéis aos princípios estabelecidos pelas Regras Internacionais de Nomenclatura Zoológica.

Zelurus (*Opisthacidius*) *parkoi* n. sp.

Espécie próxima de *Zelurus* (*Opisthacidius*) *domesticus* (Pinto, 1927).

Macho — Comprimento total 22 mm. Largura máxima (ao nível do abdômen) 6,5 mm.; (ao nível do protórax) 6 mm.

Colorido geral preto, com manchas pardo-alaranjadas na face dorsal e amareladas na ventral.

Cabeça (figs. 2 e 3) de colorido geral claro, sendo escuros os tubérculos anteníferos e uma faixa longitudinal mediana na região occipital e atrás dela; o tegumento é granuloso e revestido de cerdas escuras. Olhos muito salientes; distância inter-ocular na face dorsal igual à largura de um olho medido dorsalmente, na face ventral ligeiramente maior do que a metade da largura de um olho medido ventralmente. Os dois primeiros artículos do rostro são pretos, o

¹ Recebido para publicação a 15 de fevereiro de 1945.

último avermelhado; forma geral do rostro conforme fig. 2. Antenas com todos os artigos pretos; relação do comprimento desses artigos como 1: 2,7:21,6:? (o 3.^o artigo está partido e o 4.^o não existe).



Fig. 1 — *Zelurus (Opisthacidius) parkoi* n. sp. — Fotografia do holótipo.

Pronoto (fig. 3 de cor preta, com os elementos do desenho alaranjados: são claros os processos antero-laterais do collarinho desde sua base, os processos disciais anteriores e laterais do lóbulo anterior, bem como as regiões situadas entre

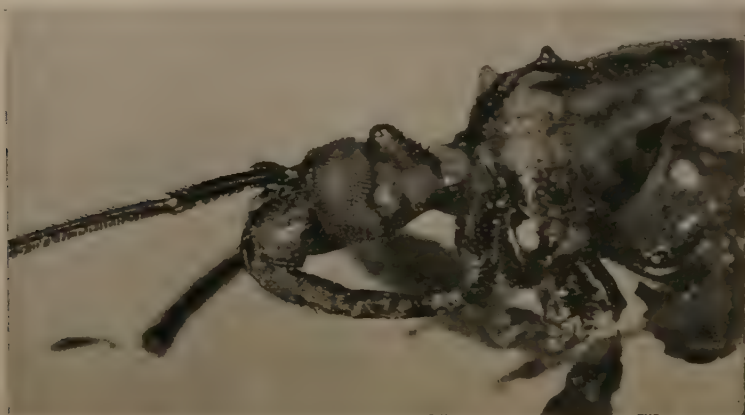


Fig. 2 — *Zelurus (Opisthacidius) parkoi* n. sp. — Cabeça, de perfil.

os processos discais anteriores e os posteriores, que são pretos, e entre êstes e os laterais; no lóbulo posterior existem 1 + 1 faixas longitudinais submedianas e 1 + 1 sublaterais claras; as últimas atingem os processos humerais. Ângulos ântero-laterais do colarinho muito salientes e agudos. Processos discais anteriores e os laterais do lóbulo anterior curtos, cônicos, os discais ligeiramente mais salientes; processos discais posteriores bem distintos, acuminados, quase do tamanho dos anteriores. Carenas longitudinais do lóbulo posterior quase inaparentes; ângulos póstero-laterais muito curtos, curvados para cima. Pêlos pretos, curtos e relativamente fortes, esparsamente distribuídos, mais numerosos nos bordos do pronoto, no colarinho, no lóbulo anterior e nos ângulos humerais. Tegumento do lóbulo anterior granuloso, cada granulação provida de uma



Fig. 3 — *Zelurus (Opisthacidius) parkoi* n. sp. — Cabeça e torax, dorsal.

pequena cerda; áreas lisas existentes logo adiante do sulco transversal que separa os dois lóbulos. Lóbulo posterior também granuloso, com fortes rugas transversais em toda a sua largura e maior do que o anterior.

Processos prosternais distintos, pouco salientes. Meso- e meta-esterno de côr clara, pleuras escuras e granuladas. Mesopleura distintamente granulada, metapleura com rugas transversais subparalelas e algumas pequenas granulações na parte anterior.

Escutelo escuro, com a escavação do disco e a ponta do processo posterior pardo-alaranjadas. O processo posterior é relativamente curto e grosso e seu sulco longitudinal mediano é muito superficial e se prolonga até cerca da metade do comprimento do processo.

Patas de colorido uniformemente preto, com exceção dos tarsos, que são de colorido mais claro. Fêmures anteriores grossos, em toda a sua extensão, ventralmente com numerosas saliências dentiformes pequenas, de um tipo só. Tibia com pequenas saliências dentiformes muito numerosas; fossa esponjosa curta, do comprimento do diâmetro do articulo.



Fig. 4 — *Zelurus (Opisthacidius) domesticus* (Pinto, 1927) — Cabeça e torax, dorsal.

Hemélitros ultrapassando ligeiramente o ápice do abdômen. Cório (fig. 5) com granulações distintas em seus 3/4 proximais; cada granulação com uma cerda curta e forte. Colorido geral da parte coriácea dos hemélitros preto, com uma faixa alaranjada longitudinal mediana e uma mancha larga subapical subdividida por nervuras pretas. Membrana pregueada, de cor castanho-clara, as nervuras de cor castanho-escura.

Conexivo bem visível; os ângulos póstero-laterais, especialmente os dos primeiros segmentos, com pequenas saliências. Cor geral do conexivo preta, com

manchas amareladas no terço posterior de cada segmento, que se prolonga em cunha para o segmento seguinte. Face ventral do abdômen (fig. 6) de colorido



Fig. 5 — *Zelurus (Opisthacidius) parkoi* n. sp. — Abdômen, dorsal.

geral amarelado, com pequena mancha preta lateral no 3.^o segmento, outra maior no 6.^o; daí para diante totalmente preto. Carena ventral distinta, prolongando-se até a metade do 7.^o segmento.

Localidade: Benjamin Constant, Rio Quichito, Estado do Amazonas, Brasil, 15 a 25/5/1942, A. Parko leg.

Holótipo macho, guardado na coleção entomológica do Museu Nacional do Rio de Janeiro, com uma lâmina.

No subgênero *Opisthacidius* Berg, 1879 [não podemos considerar as espécies *Zelurus steini* (Stal, 1859) e *Z. neivai* (Costa Lima, 1940) como a êle pertencentes] somente são conhecidas duas espécies que possuem a face ventral do abdômen parcialmente de cor clara: *Z. domesticus* (Pinto, 1927) e *Z. mexicanus* (Pelaez, 1942). De ambas, a

nossa espécie se distingue principalmente pelo aspecto do pronoto (figura 4), pelo colorido muito característico dos hemélitros e pelo pro-

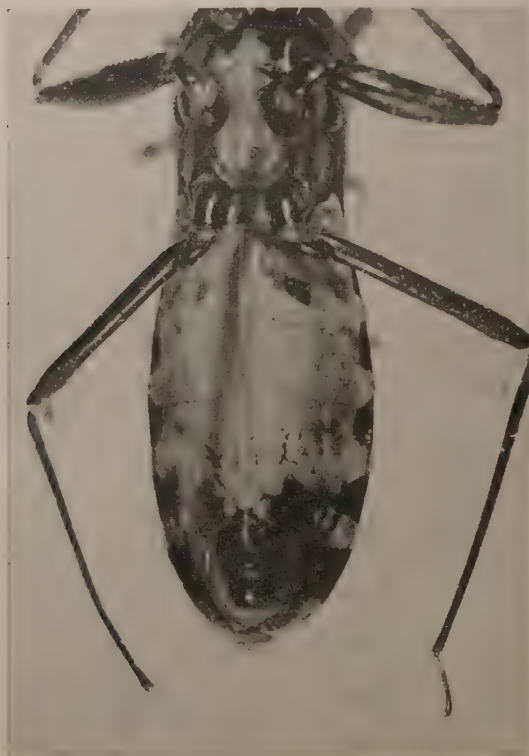


Fig. 6 — *Zelurus (Opisthacidius) parkoi* n. sp. — Abdômen, ventral.

cesso do escutelo, cujo sulco, pouco distinto, apenas atinge o meio do processo.

BIBLIOGRAFIA

- COSTA LIMA, A. M., 1940, Sobre as espécies de *Spiniger* (Hemiptera: Reduviidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 35(1):1-123, figs. 1-17, ests. 1-10, figs. 1-71.
- PELAEZ, D., 1942, Un nuevo *Spiniger* mexicano del subgénero *Opisthacidius* Berg (Hem., Reduv.). *Ciencia, México*, 3(2):60-63, figs. 1-2.

VALORES COMPARATIVOS ENTRE OS MÉTODOS DE PERFUSÃO E COLORAÇÃO DO PLASMA NA DETERMINAÇÃO DO VOLUME SANGUÍNEO DE CÃES ANÊMICOS ¹

W. O. CRUZ, E. M. DA SILVA e R. PIMENTA DE MELLO

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, D. F.

A determinação do volume total de sangue pelo método descrito por KEITH, ROWNTREE & GERAGHTY (1) injetando substância corante na circulação e determinando o volume de plasma pela diluição da substância injetada, tem validade relativa. E' um método util na determinação do volume total de plasma; entretanto, sua precisão quanto ao volume globular se baseia na constância da relação plasma-glóbulos em todo sistema circulatório, fato êste não verificado em cães normais.

O comportamento da relação entre as hemátias e o plasma na corrente circulatória em cães anêmicos ainda não foi estudado. Tivemos ocasião de fazer esta observação em cães submetidos a fortes doses de benzoato de estradiol.

MÉTODOS

A contagem de hemátias foi procedida usando a pipeta de Thoma e câmara de contagem de Neubauer. A hemoglobina foi dosada como oxihemoglobina, a cor medida no espectrofotômetro de Pulfrich. O hematócrito do sangue retirado da jugular, foi feito com o microhematócrito de Van Allen e o do sangue proveniente da perfusão em tubos de centrifugação de 10 cm³ especialmente graduados para essa determinação. O volume total de sangue pelo método da coloração do plasma foi obtido segundo técnica de HEILMEYER (2) empregando vermelho vital em vez de vermelho congo. Sem nenhum inconveniente, e melhores resultados práticos foram obtidos deixando-se a agulha com mandril na jugular entre a colheita de sangue antes e depois da injeção de corante. A técnica de perfusão obedeceu em linhas gerais à recomendada por SMITH, ARNOLD & WHIPPLE (3). Exteriorizadas a jugular e a carótida eram colocadas cânulas nestes vasos. O sangue arterial era recebido em recipiente contendo solução de citrato de sódio. Foi tomada a precaução de deixar entrar pela jugular soro fisiológico adicionado de 1% de glicose em quantidade aproximadamente igual a do sangue

¹ Recebido para publicação a 31 de janeiro de 1945.

Trabalho da Secção de Hematologia, auxiliada por benemerência do Dr. Guilherme Guinle.

saido pela carótida. Dessa maneira, e aplicando adrenalina por via venosa, procurou-se prolongar os batimentos cardíacos o mais possível, com o fim de se obter pela força propulsora do coração a maior parte do sangue circulante. Uma vez cessados os batimentos cardíacos, ligava-se a jugular, retirava-se o plastrão external, exteriorizava-se o coração, introduzia-se uma cânula na aurícula direita e injetava-se soro fisiológico pela carótida. A base da crossa da aorta era pinçada com o fito de evitar o refluxo de líquido para a circulação pulmonar com o possível extravasamento pelos brônquios. Empregava-se uma quantidade de soro fisiológico suficiente até tornar claro o líquido de perfusão.

RESULTADOS

Os resultados são apresentados na tabela 1.

Usamos 10 cães com anêmia normocrômica e normocítica provocada pela administração de benzoato de estradiol, um cão com anemia de etiologia desconhecida e de tendência microcítica e hipocrômica, e ainda dois cães normais para controle do método.

A relação entre os dois métodos em estudo pode ser obtida por duas vias diferentes, determinando no animal em vida e depois no líquido de perfusão: a) o volume de glóbulos pelo hematócrito; b) a hemoglobina por dosagem colorimétrica. Estes resultados foram apreciavelmente concordantes, pois a variação foi de $\pm 4\%$ (glóbulos 0.71 ± 0.29 e hemoglobina 0.68 ± 0.25), com exceção do cão 257 em que foi maior ($\pm 11\%$).

Como HAHN e colaboradores (4) mostraram, o emprêgo conjunto de métodos que determinem separadamente o volume total de glóbulos e o volume total de plasma em um mesmo animal fornece o meio de se obter o hematócrito médio da circulação. Com efeito, se dividirmos o volume globular total obtido pelo método do monóxido de carbono [método primitivamente descrito por GRÉHANT & QUINQUAUD (5) e posteriormente modificado sucessivamente por VAN SLYKE & SALVESEN (6) e ARNOLD, CARRIER, SMITH & WHIPPLE (7)] pelo método de perfusão de WELCKER (8) ou pelo método de ferro radioativo (4) e a soma deste mais o volume plasmático determinado pelo método de coloração do plasma, chegaremos a um valor que pode ser considerado como o hematócrito médio da circulação.

Na tabela 2 damos as relações entre cães normais e cães anêmicos na observação de autores diversos.

Segundo o hematócrito médio da circulação obtido por cálculo, nos cães anêmicos a concentração de hemátias na circulação dos pequenos vasos deve ser ainda menor que a observada em cães normais, em comparação com a concentração destas células nos vasos de calibre da jugular.

TABELA I

N.º	PESO (g)	HEMATÓCITOS (10 ⁶ /mm ³)	HEMOGLOBINA (g)	ÍNDICE VOLUME HB (%)	ÍNDICE SATURAÇÃO HB (%)	MÉTODO DE COLOREÇÃO DO PLASMA				MÉTODO DE PERFUSÃO		RELAÇÃO MÉT. PERFUSÃO MÉT. COL. PLASMA		HEMATÓCITO MÉT. PERFUSÃO CIRCULAÇÃO ** %	HEMATÓCITO MÉT. PERFUSÃO CIRCULAÇÃO ** %	RELAÇÃO HEMAT. PERFUSÃO HEMAT. CIRCULAÇÃO	
						Vol. Plasma (cm ³)	Vol. glóbulos (cm ³)	Vol. total (cm ³)	HB circulante (g)	HB circulante (g)	Vol. glóbulos (cm ³)	HB circulante (g)	Vol. glob.				HB circ.
CÃES ANÊMICOS																	
260	5.2	2.0	4.0	65	20	33	317	48	365	14	34	10	0.71	0.71	10	13	0.77
265*	5.6	2.8	5.0	64	18	28	420	95	515	26	65	18	0.68	0.69	13	18	0.78
252	7.0	2.6	6.0	77	23	30	442	110	552	33	66	19	0.60	0.58	13	20	0.65
257....	8.6	2.6	5.0	69	19	28	465	105	570	29	103	22	0.98	0.76	18	18	1.00
254....	9.1	2.6	5.0	66	19	30	560	115	675	34	103	26	0.69	0.74	15	17	0.88
258....	9.3	2.0	4.6	75	23	31	533	90	623	29	50	18	0.56	0.62	9	15	0.60
251	9.4	3.4	8.4	76	24	32	560	196	756	63	163	48	0.83	0.76	23	26	0.89
259....	9.5	1.8	4.3	78	24	31	600	95	695	29	62	16	0.65	0.57	9	14	0.64
262	11.6	2.4	5.4	77	22	30	770	170	940	50	88	25	0.52	0.50	10	13	0.56
253....	12.3	2.2	5.0	73	23	32	800	195	995	47	110	30	0.56	0.64	12	16	0.75
258....	13.0	1.8	4.2	78	24	30	820	100	720	30	100	28	1.00	0.93	14	14	1.00
MÉDIA 0.71 ± 0.29												0.68 ± 0.25		0.77 ± 0.23			
CÃES NORMAIS																	
263....	6.2	6.5	14.3	75	22	29	317	304	621	89	185	55	0.61	0.62	37	49	1.76
264....	9.7	6.2	15.0	79	24	31	510	490	1000	150	395	111	0.80	0.74	44	49	0.90

* Anemia de causa desconhecida

** Hematócrito médio da circulação.

Volume globular (método de perfusão)

Volume globular (met. perfusão) + Volume plasma (met. coloração)

TABELA 2

AUTORES	NÚMERO DE CÃES	PÊSO (g)	HEMOGLOBINA (g)	HEMATÓCRITO DA JUGULAR (%)	Relação	
					MÉT. PERFUSÃO	HEMAT. CIRCULAÇÃO
					MÉT. COL. PLASMA	HEMAT. JUGULAR
CÃES NORMAIS						
Smith & col.....	14	4.7-18.6	11.1-20.0	40 - 62	0.72 ± 0.16	0.85 ± 0.11
Hahn & col.....	7	8.0-17.1	14.5-21.6	39 - 54	0.77 ± 0.13	0.86 ± 0.10
CÃES ANÊMICOS						
Presente trabalho.....	11	5.2-13.0	3.9 - 8.3	13 - 26	0.68 ± 0.25	0.77 ± 0.23

As diferenças de volume globular total por nós encontradas em cães anêmicos empregando os métodos de coloração do plasma e o da perfusão foram em ordem de grandeza similares às já verificadas em cães normais. Maior variabilidade foi seguramente verificada, o que vem mostrar ser o método de coloração do plasma ainda muito menos aplicável em cães anêmicos que em cães normais. Evidentemente, se em cães normais é possível uma correção, o mesmo não se aplica a cães anêmicos em virtude da grande variabilidade assinalada. Em consequência, em cães anêmicos, o volume total de sangue deverá, por maiores razões, ser determinado, como SMITH, ARNOLD & WHIPPLE (3) já assinalaram para cães normais, por um duplo método: o da coloração do plasma para a medida do volume total de plasma e o do monóxido de carbono, do ferro radioativo ou da perfusão, para o volume total de glóbulos. A soma desses dois resultados fornece dados muito próximos do real.

RESUMO

Os AA. determinaram, em cães anemiados por altas doses de benzoato de estradiol, o volume total de sangue para comparar os métodos de coloração do plasma (volume total de plasma e de glóbulos) e da perfusão de Welcker (volume total de glóbulos).

Verificaram quanto ao volume total de glóbulos o valor de 0.68 ± 0.25 para a relação entre os resultados obtidos pelo método da perfusão de Welcker e o método da coloração do plasma. Quanto ao valor médio (0.68), é comparável ao obtido em cães normais por SMITH e colaboradores (0.72) e HAHN e colaboradores, (0.77). A variação dos resultados, entretanto, foi muito maior nos cães anêmicos (± 0.25) que as verificadas em cães normais pelos autores citados (± 0.16 e ± 0.13 , respectivamente).

A relação entre o hematócrito médio da circulação e o hematócrito da jugular, calculado à base dos dados fornecidos pelos métodos empregados, foi de 0.77 ± 0.23 , enquanto que em cães normais, segundo os autores citados, foi de 0.85 ± 0.11 e 0.86 ± 0.10 .

Estas verificações acentuam a necessidade de se empregarem, conjuntamente, métodos adequados à determinação do volume de plasma e métodos adequados à determinação do volume de glóbulos para que haja, especialmente em animais anemiados, razoável aproximação ao volume sanguíneo total.

SUMMARY

The authors determined the total blood volume of dogs rendered anemic by high doses of estradiol benzoate in order to compare the efficiency of the plasma dye method (total plasma volume) with that of the Welcker perfusion method (total red blood cell volume).

The value of 0.68 ± 0.25 was obtained for the ratio between the results by the Welcker perfusion method and the plasma dye method. The average value of 0.68 is in harmony with that obtained for normal dogs by SMITH and collaborators (0.72) and HAHN and his colleagues (0.77). The difference between results was much greater, however, in the anemic dogs (± 0.25) than the values obtained for normal dogs as cited by the above authors (± 0.16 and ± 0.13 , respectively).

The ratio between the average circulation hematocrit and the jugular hematocrit computed on the basis of the data gathered by these methods was 0.77 ± 0.23 , whereas according to the previous authors in normal dogs this was 0.85 ± 0.11 and 0.86 ± 0.10 .

These observations are additional proof of the necessity for employing simultaneously adequate methods for the determination of the plasma volume as well as for the determination of the red blood cell volume, in order to get accurate results of the total blood volume, especially in anemic animals.

BIBLIOGRAFIA

1. KEITH, N. M., ROWNTREE, L. G. & GERAGHTY, J. T., 1915, A method for the determination of plasma and blood volume. *Arch. Int. Med.*, 16:547-576.
2. HEILMEYER, L., 1929, Das Verhalten des Kongorots zu den Serumkolloiden, zugleich ein methodischer Beitrag zur Blutmengenbestimmung mit Kongorot nach Griesbach. *Biochem. Z.*, 212:430-442.
3. SMITH, H. P., ARNOLD, H. R. & WHIPPLE, G. H., 1921, Blood Volume Studies. VII. Comparative values of Welcker, Carbon Monoxide and Dye Methods for Blood Volume Determination. Accurate Estimation of Absolute Blood Volume. *Amer. J. Physiol.* 56:336-360.
4. HAHN, P. F., BALFOUR, W. M., ROSS, J. F., BALE, W. F. & WHIPPLE, G. H., 1941, Red cell volume circulating and total as determined by radio iron. *Science*, 93:87.
5. GRÉHANT, N. & QUINQUAUD, CH., 1882, Mesure du volume de sang contenu dans l'organisme d'un Mammifère vivant. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 94:1450; *J. Anat. Physiol.*, 18:564.
6. VAN SLYKE, D. D. & SALVESEN, H. A., 1919, The Determination of Carbon Monoxide in Blood. *J. Biol. Chem.*, 40:103-107.
7. ARNOLD, H. R., CARRIER, E. B., SMITH, H. P. & WHIPPLE, G. H., 1921, Blood Volume Studies. V. The Carbon Monoxide Method — Its Accuracy and Limitations. *Amer. J. Physiol.*, 56:313-327.
8. WELCKER, H., 1854, Bestimmungen der Menge des Körperblutes und der Blutfaerbekraft, sowie Bestimmungen von Zahl, Maass, Oberflaeche und Volumen des einzelnen Blutkoerperchens beim Thiere und beim Menschen. *Praeger Vrtijschr.*, 4:11; *Vrtijschr. prakt. Heik.*, 44:11. (cit. in (1) e (3)).

RESULTADOS DE 3 ANOS DE OBSERVAÇÃO DE CULTIVO DE "TOXOPLASMA" (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) EM CULTURA DE TECIDO ¹

H. MEYER e M. XAVIER DE OLIVEIRA

Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro, D. F.

No mês de novembro de 1941 (1) iniciamos o cultivo de *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux em culturas de tecido de embrião de galinha feitas com a técnica clássica de Carrel, em gota pendente, e observamos que o parasito cultiva-se facilmente com esta técnica em todos os órgãos experimentados, tais o baço, fígado, miocárdio, tecido nervoso, monócitos do sangue, etc. A multiplicação dos parasitos se faz no protoplasma das células que, em consequência, são destruídas. Toda vez que uma cultura se achava muito parasitada, adicionamos um pouco de tecido fresco na passagem seguinte.

Em experiências preliminares vimos que o parasito não perdeu a sua virulência durante as 7 primeiras semanas deste cultivo.

Em estudos posteriores verificamos (2) que células parasitadas podem ainda entrar em divisão e estudamos o processo mitótico em tais células. Além disso, foi estudada (3) a sobrevivência do parasito em culturas de tecido que se acham em vida latente, método este que foi elaborado por FISCHER (4) para as culturas de tecido em geral e que veio facilitar enormemente o trabalho rotineiro das repicagens, necessárias para a manutenção de estirpes celulares. Verificamos ainda que o parasito mantido em culturas de tecido em vida latente sobrevive com as células até 25 dias em temperatura ambiente, sem que seja necessário repicar as culturas. Foi observado também neste trabalho que o *Toxoplasma*, que naquela época já havia sido cultivado durante 1 ano e 8 meses, ainda estava virulento tal como no início do seu cultivo.

Em novembro de 1944 este cultivo completou 3 anos; as culturas foram sempre, como no início, repicadas em gota pendente e, de vez

¹ Recebido para publicação a 12 de janeiro de 1945.

Trabalho realizado no Laboratório de Biofísica da Faculdade Nacional de Medicina (Prof. Dr. Carlos Chagas Filho).

em quando, juntou-se tecido fresco ao tecido já muito parasitado. Frequentemente, para diminuir o trabalho, deixamos as culturas em temperatura ambiente, sem repicá-las.

Em 30-10-44 inoculamos por via subcutânea uma série de camondongos, empregando uma cultura de tecido muito parasitada em cada um; todos os camondongos inoculados morreram de Toxoplasmose 10 dias depois da inoculação, mostrando que o parasito, nos 3 anos de cultivo em cultura de tecido, nada perdeu de sua virulência.

BIBLIOGRAFIA

1. GUIMARAES, F. N. & MEYER, H., 1942, Cultivo de *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909 em culturas de tecido. *Rev. Brasil. Biol.*, 2(1):123-129.
2. MEYER, H. & OLIVEIRA, M. X., 1942, Observações sobre divisões mitóticas em células parasitadas. *An. Acad. Brasil. Ciênc.*, 14(4):
3. MEYER, H. & OLIVEIRA, M. X., 1942, Conservação de protozoários em culturas de tecido mantidas à temperatura ambiente. *Rev. Brasil. Biol.*, 3(3):341-343.
4. FISCHER, A., 1925, The growth of tissue cells from warmblooded animals at lower temperature. *Arch. exp. Zellj.*, 2:303.

NOTÍCIAS E COMENTÁRIOS

REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

A Comissão de Redação da REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA apresentou ao Conselho Científico o seguinte balancete, relativo ao movimento financeiro durante o ano de 1944 :

RECEITA :

Saldo do ano anterior	Cr\$	31.279,60
Contribuição do Dr. Guilherme Guinle		50.000,00
Contribuição da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro		2.880,00
Contribuição da Sociedade de Biologia de São Paulo		3.280,00
Contribuição da Sociedade de Biologia de Minas Gerais		1.280,00
Assinaturas e venda avulsa		6.954,30
Separados excedentes		3.034,00
Juros de depósitos no Banco Boavista		1.513,20
Total da RECEITA	Cr\$	100.221,10

DESPESA :

Impressão do número 1	Cr\$	12.947,70
Impressão do número 2		10.182,00
Impressão do número 3		11.433,60
Impressão do número 4		16.459,60
Total do acréscimo pago pelos separados excedentes		4.093,40
Material de secretaria, tesouraria, expedição e propaganda		2.485,50
Total da DESPESA	Cr\$	57.601,80
SALDO em 15 de fevereiro de 1945	Cr\$	42.619,30

(depositado no Banco Boavista, agência Avenida, conta corrente 21.287).

Ao Professor Carlos Chagas Filho e aos Drs. Vital Brasil e H. da Rocha Lima foi conferido o título de membro correspondente da Sociedade Argentina de Biologia, em janeiro próximo passado.

O Sr. R. Ferreira d'Almeida, que se achava contratado no Departamento de Zoologia do Estado de São Paulo, transferiu-se para o Museu Nacional do Rio de Janeiro, onde continuará seus trabalhos sobre Lepidópteros.

O Dr. J. F. Teixeira de Freitas, do Instituto Oswaldo Cruz, que esteve um ano em Assunção do Paraguai, trabalhando no Laboratório de Parasitologia do Instituto de Higiene, regressou ao Rio de Janeiro em fevereiro próximo passado. A viagem foi feita sob os auspícios da Divisão de Cooperação Intelectual do Ministério das Relações Exteriores do Brasil.

A Sociedade de Biologia de Minas Gerais elegeu sua nova Diretoria para 1945, que ficou assim constituída : Presidente, Octavio de Magalhães; vice-presidente, Aroeira Neves; 1.º secretário, Oscar Versiani; 2.º secretário, J. Alvim da Silva; tesoureiro, Adyr Rocha. Conselho Consultivo : Aulo Pinto Viégas, Nelo Rangel e Santiago A. Freire.

A **Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro** elegeu a seguinte Diretoria para o ano de 1945: Presidente, Gilberto G. Villela; vice-presidente, A. S. Penna de Azevedo; 1.º secretário, M. Vianna Dias; 2.º secretário, R. Pimenta de Mello; tesoureiro, Cassio Miranda. Comissão de Sindicância: Lauro Travassos, Miguel Ozorio de Almeida e H. C. de Souza Araujo.

Retificação: No artigo de F. ORTENSOOSER "Cálculo do grau de mistura racial através dos grupos sanguíneos", publicado no número 4 do volume 3, na

linha 3 do rodapé, à página 532, onde se lê:

$$\frac{p_m + q_m}{p_2 + q_2}$$

substituir por:

$$\sqrt{\frac{p_m + q_m}{p_2 + q_2}}$$